



Naturalis

Repositorio Institucional
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Perspectivas del uso del endoparasitoide nativo *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae) para el control biológico de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) : Evaluación a campo

Salas Gervassio, Nadia

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Sánchez, Norma

Co-dirección: Luna, María Gabriela

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2017

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20170407001503>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

**“Perspectivas del uso del endoparasitoide nativo
Pseudapanteles dignus (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae)
para el control biológico de la polilla del tomate *Tuta absoluta*
(Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Evaluación a campo.”**

Trabajo de investigación para optar por el título de Doctor en Ciencias Naturales

LIC. SALAS GERVASSIO, NADIA

2017



DIRECTORES:

DRA. NORMA SÁNCHEZ Y DRA. MARIA GABRIELA LUNA

Agradecimientos

- Quiero agradecer en primer lugar a mis directoras: Dra. Norma E. Sánchez y Dra. María Gabriela Luna, por la confianza y el apoyo brindado a lo largo de estos años. Gracias por sus consejos, y fundamentalmente por su buena predisposición “siempre”, fue un inmenso privilegio haber sido dirigida por ustedes.
- A Gaby, por todo lo que me ha enseñado y por acompañarme en cada etapa de esta Tesis, tanto desde lo profesional como desde lo humano. Gracias por tu dedicación, humildad y cariño.
- A Norma, por su enorme compromiso científico, por compartir conmigo su vasto conocimiento en la Ecología de plagas y por estar presente en todo momento.
- A los jurados: Dra. Vanda H. Paes Bueno; Dra. Claudia Cédola y Dr. Sergio Ovruski por sus aportes en la evaluación de esta tesis.
- Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), por el financiamiento otorgado para la realización de esta Tesis, conjuntamente con el Proyecto de Investigación Plurianual (PIP-0112) de CONICET, el Proyecto de Investigación Aplicada (PICT-1624) de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (MINCyT) y el Proyecto N° 706, correspondiente al Programa de Incentivos a Docentes-Investigadores del Ministerio de Cultura y Educación de La Nación.
- A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata (FCNyM-UNLP) por la formación académica recibida.
- Al Programa Marie Curie Actions-International Research Staff Exchange Scheme (IRSES) 2011-2014. Proyecto: Integrating new practices in programs of Biological Control against Agricultural pests – IPRABIO (Unión Europea), por financiar la estancia

de investigación en el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA-España) como parte de mi formación doctoral, bajo la dirección del Dr. Alberto Urbaneja.

- Al Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE. CONICET-UNLP), por brindarme el lugar de trabajo para la realización de esta tesis doctoral. A sus directoras Alda González y Graciela Navone y a todo el personal del instituto, investigadores, becarios, pasantes, técnicos y personal de apoyo, en especial a los Sres. Gastón Cavallo, Anibal Suriano y Jorge Barneche.
- A todo el hermoso grupo de Ecología de Plagas y Control Biológico: Norma, Gerardo, Patricia, Nancy, Gaby, Clau, Marha, Fer, Marga, Eli, Marianita, Maru, Estefi, Coco, Naty, Fran y Maxi, por trabajar responsablemente en un ambiente siempre alegre y positivo.
- A la Dra. Adriana Salvo del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV) CCT-CONICET-Córdoba, por su ayuda en la determinación de los parasitoides y principalmente por su calidez y generosidad.
- A Graciela Minardi por su apoyo en los análisis estadísticos.
- A María Cristina Estivariz “Popy” y Laura Morote por la realización de la portada y colaboración en el diseño gráfico de esta Tesis.
- A los productores: Marcelo Maita, Susana Parrillo, Norma y demás integrantes del “Colectivo Orgánico”. Muy especialmente al director de la Estación Experimental de Gorina (Ministerio de Asuntos Agrarios, Prov. De Buenos Aires), Ing. Agrón. Néstor Mezquiriz, por su buena voluntad y disponibilidad.
- A Vivi, Eli, Fran, Coco y a los pasantes: Denise, Ailín y Maxi por su ayuda en el mantenimiento de las colonias.

- A Vivina Savino, Guillermo Reboredo, Margarita Rocca, Fernanda Cingolani, Jorge Barneche y Martha Roggiero por haberme llevado tantas veces al campo durante los ensayos y muestreos.
- Muy especialmente a Augus, Coco, Marianita, Maru, Estefi y Naty por tantas charlas, consejos, palabras de aliento, mates y risas compartidas.
- A mis amigas/os: Juli, Cele, Gor y Chechu; a los chicos de Alta Cepa: Brunito, Sofi, Palumbo, Fitte, Agus, Marina, Dai, Matis, Marianita, Maru, Naty y Augus; y a mis queridos pecetos: Javi, Alvarito, Dai, Guille, Fer, Lolo, Naty, Bele, Flor, Poli, Mari, Juli, Solcito y Re, por tantos momentos hermosos vividos y por ser una de las cosas más lindas que me dio esta carrera.
- A Fede por acompañarme en esta etapa y día a día.
- A mis papás por haberme brindado la posibilidad de estudiar, por su amor y apoyo incondicional en todo lo que hago.
- A mis hermanos y sobrinos hermosos.

Índice

Resumen.....	I
Abstract.....	V
Capítulo 1. Introducción General	
1.1 Marco teórico.....	1
1.1.1 Manejo Integrado de Plaga y Manejo Ecológico de Plagas.....	4
1.1.2 Concepto de plaga agrícola.....	7
1.1.3 Nivel de daño económico y umbral económico.....	7
1.1.4 El CB como estrategia de manejo de plagas.....	9
1.1.5 Los parasitoides como agentes de CB.....	13
1.1.6 Planteo del problema.....	14
1.1.7 Hipótesis y predicciones generales.....	17
1.1.8 Objetivo general.....	18
1.1.9 Objetivos específicos.....	18

Capítulo 2. Sistema de estudio

2.1 El Cultivo de Tomate	20
2.1.1 Generalidades.....	20
2.1.2 Fenología del cultivo.....	23
2.1.3 Situación del cultivo en el mercado.....	24
2.1.4 Área de estudio.....	28
2.2 La Plaga <i>Tuta absoluta</i>	
2.2.1 Ubicación taxonómica.....	32
2.2.2 Biología y Ecología.....	32
2.2.3 Injuria a la planta y métodos de control.....	36
2.2.4. Enemigos naturales de <i>T. absoluta</i>	37
2.3 El parasitoide <i>Pseudapanteles dignus</i>	
2.3.1 Ubicación taxonómica.....	39
2.3.2 Biología y Ecología.....	40

2.3.3 Su uso como agente de CB.....	43
-------------------------------------	----

2.4 Materiales y Métodos Generales

2.4.1 Cría de Insectos.....	44
-----------------------------	----

2.4.2 Cría del hospedador: <i>Tuta absoluta</i>	45
---	----

2.4.3 Cría del parasitoide: <i>Pseudapanteles dignus</i>	48
--	----

Capítulo 3. Interacción *T. absoluta*-*P. dignus* en Solanáceas cultivas y no cultivadas del CHP. Trama trófica cuantitativa de *T. absoluta*. Control Biológico por Conservación

3.1 Introducción.....	52
-----------------------	----

3.2 Materiales y Métodos.....	55
-------------------------------	----

3.2.1 Área de estudio, toma de muestras y cría de insectos.....	55
---	----

3.2.2 Identificación de las especies de insectos.....	62
---	----

3.2.3 Análisis de los datos.....	62
----------------------------------	----

3.3 Resultados	63
----------------------	----

3.4 Discusión.....	86
--------------------	----

Capítulo 4. Factibilidad de uso de *Pseudapanteles dignus* en liberaciones aumentativas para el control de *T. absoluta*.

4.1 Introducción.....	92
4.2 Materiales y Métodos.....	97
4.2.1 Obtención del material entomológico.....	97
4.2.2 Estimación de las tasas de liberación a semi-campo.....	97
4.2.3 Búsqueda del hospedador y capacidad de vuelo de <i>P. dignus</i>	103
4.3 Resultados	107
4.3.1 Estimación de las tasas de liberación a semi-campo.....	107
4.3.2 Búsqueda del hospedador y capacidad de vuelo de <i>P. dignus</i>	109
Anexo	
1.....	112
2.....	113
4.4 Discusión.....	114

Capítulo 5. Desempeño de *P. dignus* en el cultivo de Berenjena

5.1 Introducción.....	118
5.2 Materiales y Métodos.....	126
5.2.1 Plantas e Insectos usados en los experimentos.....	126
5.2.2 Atributos biológicos de <i>P. dignus</i> sobre berenjena en condiciones de laboratorio.....	127
5.3 Resultados.....	135
5.4 Discusión.....	138

Capítulo 6. Consideraciones finales

6.1 Conservación de las poblaciones de <i>P. dignus</i> en el Agroecosistemas.....	142
6.2 Control biológico aumentativo de <i>P. dignus</i>	144
6.3 Consideraciones Finales.....	145
Referencias bibliográficas.....	146

Índice de Tablas

Tabla 1.1. Diferencias de estructura y función entre agro-ecosistemas y ecosistemas naturales.....	3
Tabla 1.2. Diferencias y semejanzas entre el MIP y el MEP.....	6
Tabla 2.1. Producción mundial de tomate.....	25
Tabla 2.2. Principales variedades de tomate comercializados.....	28
Tabla 3.1. Listado de las especies de solanáceas registradas durante el período de estudio (2013-2015) en el CHP	64
Tabla 3.2. Especies y morfoespecies de geléquidos reportados (período 2013-2015).....	68
Tabla 3.3. Gremios y abundancia relativa de los insectos registrados (S: riqueza específica; *n° de larvas de geléquidos, **n° de parasitoide.....	71
Tabla 4.1. Porcentaje de larvas de <i>T. absoluta</i> parasitadas por <i>P. dignus</i> , en ensayos de suelta confinada.....	108
Tabla 4.2. Chances de parasitismo.....	108
Tabla 5.1. Atributos de la historia de vida de <i>P. dignus</i> parasitando a <i>T. absoluta</i> sobre plantas de berenjena en condiciones de laboratorio (25 ±	

2°C,	65	±	5%	HR,	14:10	[L:	O]
h).....							135

Tabla 5.2. Regresión logística de la proporción de larvas de <i>T. absoluta</i> parasitadas por <i>P. dignus</i> en relación al número inicial de hospedadores ofrecidos.....	137
---	-----

Índice de Figuras

Figura 1.1. Componentes, procesos y servicios ecosistémicos.....	2
Figura 1.2. Nivel de Daño Económico (NDE) y Umbral Economico (UE).....	8
Figura 1.3. Enemigos naturales.....	10
Figura 2.1. Cultivo comercial de tomate bajo invernáculo.....	21
Figura 2.2. Cultivo comercial de tomate a cielo abierto.....	21
Figura 2.3. Cultivo industrial de tomate.....	22
Figura 2.4. Morfología de la planta de tomate.....	23
Figura 2.5. Mapa de la República Argentina, indicando las provincias y regiones productoras de tomate.....	26
Figura 2.6. Producción de tomate en la Argentina.....	27
Figura 2.7. Cinturón Hortícola Platense.....	29
Figura 2.8. Principales cultivos del CHP.....	30
Figura 2.9. Distribución actual de <i>Tuta absoluta</i>	33
Figura 2.10. Estados de desarrollo de <i>Tuta absoluta</i>	35

Figura 2.11. Cultivo de tomate con daño de <i>T. absoluta</i>	36
Figura 2.12. Distribución de <i>Pseudapanteles dignus</i>	41
Figura 2.13. Estados de desarrollo de <i>Pseudapanteles dignus</i>	42
Figura 2.14. Acondicionamiento del material vegetal para la cría de <i>T. absoluta</i>	45
Figura 2.15. Invernáculo experimental del CEPAVE.....	46
Figura 2.16. Cría de <i>T. absoluta</i> en bioterio experimental bajo condiciones controladas, jaula de oviposición	47
Figura 2.17 Cría de <i>T. absoluta</i> en bioterio experimental bajo condiciones controladas, jaula de cría y jaula de pupación.....	48
Figura 2.18. Acondicionamiento del material vegetal para la cría de <i>P. dignus</i>	49
Figura 2.19. Unidades de parasitismo. Cría de <i>P. dignus</i>	50
Figura 2.20. Colonia de <i>P. dignus</i>	51
Figura 2.21. Individuos adultos de <i>P. dignus</i> obtenidos en la cría experimental.....	51
Figura 3.1. Imagen satelital de las distintas localidades del CHP.....	56-57

Figura 3.2. Muestreo de larvas de geléquidos.....	59
Figura 3.3. Revisión en el laboratorio del material colectado en el campo y acondicionamiento de las larvas obtenidas.....	60
Figura 3.4. Bioterio aclimatado del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) (25 ° C ± 2, 70 % HR, 14:10 L: O).....	61
Figura 3.5. Solanáceas con daño de insectos minadores.....	69
Figura 3.6. Especies de geléquidos registradas (2013-2015).....	70
Figura 3.7. Complejo de parasitoides asociaciados a <i>T. absoluta</i> durante el estudio.....	74
Figura 3.8. Trama trófica cuantitativa de parasitoides de <i>Tuta absoluta</i> en el CHP.....	75
Figura 3.9. Patrón alar de himenópteros registrados.....	76
Figura 3.10. Perfiles fenológicos indicando la estacionalidad de <i>Tuta absoluta</i> y <i>Pseudapanteles dignus</i> en cinco especies de solanáceas del CHP, durante el período de estudio (2013-2015).....	83
Figura 3.11. Número promedio (± ES) de larvas de <i>Tuta absoluta</i> por hoja y porcentaje de parasitismo de <i>Pseudapanteles dignus</i> en <i>S. melongena</i> y <i>N. glauca</i> . Período 2013-2015.....	84

Figura 3.12. Número promedio (\pm ES) de larvas de <i>Tuta absoluta</i> por hoja y porcentaje de parasitismo de <i>Pseudapanteles dignus</i> en <i>S. americanum</i> y <i>S. sisymbriifolium</i> . Período 2013-2015.....	85
Figura 4.1. Hembra de <i>Pseudapanteles dignus</i>	96
Figura 4.2. Estación Experimental de Gorina. Ministerio de Agroindustria.....	98
Figura 4.3. Ensayo de suelta confinada en condiciones de semi-campo. Detalle de jaula de <i>voile</i> encerrando una planta de tomate del cultivo.....	99
Figura 4.4. Infestación de plantas con larvas de <i>T. absoluta</i> . Vista de la infestación manual a las 24 hs.....	100
Figura 4.5. Liberación de las hembras de <i>P. dignus</i> , mediante la utilización de un aspirador bucal, dentro de la jaula de <i>voile</i> conteniendo una planta de tomate.....	101
Figura 4.6. Fin del ensayo, recolección de las hojas con daño de cada planta de tomate.....	101
Figura 4.7. Mantenimiento bajo condiciones controladas de las hojas de tomate infestadas con <i>T. absoluta</i> luego de su exposición al parasitismo por <i>P. dignus</i> , en un cultivo de tomate protegido. Vista de una unidad de cría	102

Figura 4.8. Ensayo de capacidad de vuelo y búsqueda de <i>P. dignus</i>	104
Figura 4.9. Esquema del invernáculo experimental con vista de 4 plantas, indicando el punto central de suelta de la hembra del parasitoide.....	105
Figura 4.10. Hembra de <i>P. dignus</i> marcada con polvo fluorescente.....	106
Figura 4.11. Distancia recorrida por la hembra de <i>P. dignus</i> por unidad de tiempo (metros/minuto).....	109
Figura 4.12. Frecuencia de los distintos comportamientos observados en las hembras de <i>P. dignus</i> liberadas	110
Figura 4.13. Proporción de tiempo (Media \pm ES) que la hembra de <i>P. dignus</i> invirtió en diferentes actividades comportamentales durante 45 minutos de observación.....	111
Figura 5.1. <i>Solanum melongena</i>	120
Figura 5.2. Respuesta funcional de Tipo I según Holling (1959).....	122
Figura 5.3. Respuesta funcional de Tipo II según Holling (1959).....	123
Figura 5.4. Respuesta funcional de Tipo III según Holling (1959).....	124
Figura 5.5. Cultivo de berenjena del CHP con daño de <i>T. absoluta</i>	125

Figura 5.6. Invernáculo experimental del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores -CEPAVE (CONICET-UNLP).....127

Figura 5.7. Vista de las Unidades Experimentales en un bioterio aclimatado, conteniendo en su interior una planta de berenjena infestada con larvas de *T. absoluta* y una hembra de *P. dignus*.....128

Figura 5.8. Detalle de cocón de *Pseudapanteles dignus* sobre una planta de berenjena.....129

Figura 5.9. Cámara de cópula de *P. dignus*.....130

Figura 5.10. Ensayo de respuesta funcional de la hembra de *P. dignus* bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo.....132

Figura 5.11. Número y proporción de larvas de *T. absoluta* parasitadas por *P. dignus*137

Resumen

En el marco de una agricultura sustentable y frente a la problemática socio-ambiental que atraviesa la agricultura actual, la Agroecología surge como un nuevo paradigma que propone incrementar la biodiversidad funcional dentro de los agroecosistemas, optimizando los procesos naturales y eliminando el uso de insumos tóxicos tales como herbicidas de amplio espectro, fertilizantes sintéticos y plaguicidas. En este sentido el Control Biológico (CB) de plagas resulta una técnica alternativa al uso de insecticidas químicos y es considerado una estrategia viable para restaurar la biodiversidad funcional en los ecosistemas agrícolas. Por definición, el CB consiste en la utilización de una o varias especies de enemigos naturales, (u “organismos benéficos”), para reducir la densidad poblacional de otro organismo considerado plaga, mediante la introducción, aumento en número, o conservación de los mismos en el agroecosistema.

Los insectos parasitoides constituyen un tipo particular de enemigos naturales cuyo estado larval vive a expensas como parásito de un individuo huésped - usualmente otro insecto - el cual muere en dicha interacción. Estos son valorados por su ubicuidad, eficiencia de búsqueda y por su especialización en una o unas pocas especies hospedadoras, además de registrar las tasas de establecimiento y éxito de control comparativamente más altas en los programas de control biológico con respecto a otros agentes de control. Por tal motivo, la importancia de los mismos ha dado lugar a diversos estudios sobre los factores que fomentan su permanencia y abundancia, entre ellos, la presencia de especies vegetales que proporcionan recursos florales y refugio para los adultos.

El cultivo de tomate *Solanum lycopersicum* L. (Solanales: Solanaceae) constituye una de las actividades productivas más importantes de la República Argentina y en particular del Cinturón Hortícola Platense (CHP), situado al noreste de la provincia de Buenos Aires. Existe un complejo de plagas agrícolas asociadas al mismo que disminuye en gran medida su rendimiento, conformado fundamentalmente por moscas blancas,

trips, arañuela roja y el microlepidóptero denominado “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).

Tuta absoluta es una de las principales plagas del cultivo de tomate en la región Neotropical, de donde es originaria y desde hace una década se ha convertido en una amenaza para este cultivo a nivel mundial, como consecuencia de su introducción y posterior dispersión en países de la cuenca mediterránea, África y Asia. El daño es ocasionado por la larva, de hábito minador, que se alimenta principalmente de hojas pero también ataca tallos y frutos, restándole valor comercial al producto. Si bien *T. absoluta* es una de las principales plagas del cultivo de tomate en la literatura se mencionan otras especies de solanáceas como hospederas de la polilla, tanto cultivadas: *Solanum tuberosum* L., *S. melongena* L. y *Nicotiana tabacum* L., como silvestres: *Datura ferox* L., *Salpichroa origanifolia* (Lam.) Baill., *S. sisymbriifolium* Lam., *S. nigrum* L. y *N. glauca* L.

Hasta el momento, el manejo sanitario predominante de *T. absoluta* en América de Sur se basa en el uso de plaguicidas de síntesis. Dado los numerosos efectos negativos que este tipo de productos presentan, el control biológico es uno de los métodos de protección vegetal que más interés ha concitado en todas las regiones en donde se encuentra la plaga.

En Sudamérica se ha reportado un rico complejo de enemigos naturales que atacan a esta especie en sus diferentes estados de desarrollo. Particularmente para la Argentina, dentro del conjunto de los parasitoides larvales, se encuentra el endoparásitoide *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae) cuyo conocimiento previo indica, *a priori*, que el mismo posee varias características positivas para ser considerado un agente de control dentro de la región del CHP.

El objetivo general de este trabajo de Tesis es el Control Biológico de *T. absoluta* mediante el uso del endoparásitoide nativo *P. dignus* a escala predial, en el CHP. Para ello se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1) Entender cómo utiliza este parasitoide los recursos fuera del invernáculo mediante el estudio de las relaciones tróficas entre *T. absoluta* (u otros geleíquidos) y el parasitoide *P. dignus*, cuando el

hospedador se alimenta de solanáceas cultivadas y no cultivadas presentes en los predios hortícolas donde se cultiva tomate; 2) Realizar una Trama Trófica Cuantitativa de parasitoides para la plaga *T. absoluta* sobre solanáceas cultivadas y no cultivadas; 3) Estimar la mortalidad de la plaga en invernáculos mediante distintas tasas de liberaciones de *P. dignus*, a escala experimental; 4) Estimar la capacidad de vuelo y búsqueda del hospedador por parte de las hembras de *P. dignus*, dentro de un invernáculo experimental; y 5) Determinar algunos atributos biológicos (tiempo de desarrollo, fecundidad, longevidad) y de comportamiento de parasitismo (respuesta funcional) de *P. dignus* atacando a *T. absoluta* en berenjena bajo condiciones de laboratorio.

Para los dos primeros objetivos, se seleccionaron siete quintas hortícolas donde se cultiva tomate y representativas del CHP, en las cuales se realizó un muestreo mensual de geléquidos minadores sobre solanáceas cultivadas y no cultivadas presentes en los predios hortícolas en donde se cultiva tomate, entre los años 2013 y 2015, a fin de dilucidar las relaciones tróficas entre *T. absoluta* (u otros geléquidos) y el parasitoide *P. dignus*, cuando los hospedadores se alimentan de dichas especies vegetales. Los resultados obtenidos evidenciaron que la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* es parte de una compleja red alimentaria, conformada por solanáceas cultivadas y de crecimiento espontáneo, *T. absoluta* y otros geléquidos, y *P. dignus* y otros parasitoides larvales. También que las especies silvestres *N. glauca*, *S. americanum*, y *S. sisymbriifolium* podrían ayudar a mantener la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* en los cultivos de berenjena y tomate. Además se evidenció que *P. dignus* exhibe una mayor especificidad por la especie hospedadora, parasitando únicamente a *T. absoluta*, independientemente de la especie vegetal en la que esta se halle.

La evaluación de este agente de control mediante distintas tasas de liberación se llevó a cabo en invernáculos experimentales de la Estación Experimental de Gorina (Ministerio de Asuntos Agrarios, Prov. de Buenos Aires), durante tres temporadas (2013-2015). Por medio de ensayos de sueltas confinadas en jaulas que encerraban una planta, se estimó la mortalidad (% de parasitismo) de *T. absoluta*, teniendo en cuenta distintas densidades de la plaga y de avispas hembras liberadas, por planta. También se

determinó experimentalmente la capacidad de vuelo y búsqueda del hospedador por parte de las hembras del parasitoide. Este estudio reveló que a una densidad de 10 hospedadores por planta, la liberación de 3 hembras del parasitoide produce porcentajes de parasitismo más altos que la liberación a una tasa mayor. Esto sugiere que el control de la polilla a densidades del parasitoide mayores de 3 hembras, podría verse afectado por un fenómeno de interferencia mutua por parte de las avispas en la unidad experimental. Por otra parte, se comprobó que a densidades menores del hospedador, la liberación de 1 o 2 avispas de *P. dignus* no afectó el porcentaje de parasitismo causado, mientras que a la menor densidad probada, de 2 hospedadores no se registró parasitismo, lo que podría indicar la disminución de la eficiencia de búsqueda del parasitoide a menores densidades del hospedador.

Finalmente, en el laboratorio, se evaluó el desempeño de *P. dignus* como enemigo natural de *T. absoluta* en berenjena, una especie cultivada donde también la polilla es una plaga. La hembra de *P. dignus* si bien exhibió un desempeño algo menor cuando fue criada con larvas de *T. absoluta* en plantas de *S. melongena*, que cuando se crió sobre *S. lycopersicum*, mostró igualmente potencialidad para el control en esta otra solanácea cultivada. Su desarrollo fue más lento (~ 5d), la longevidad de la hembra menor (~ 2d), el periodo reproductivo más largo (~ 4d) y la fecundidad menor (medida como número de cocones formados). La respuesta funcional de *P. dignus* sobre plantas de berenjena fue independiente del incremento de la densidad de larvas de *T. absoluta* ofrecidas, al igual que en tomate.

Como consideración final, se puede concluir que *P. dignus* es un agente de biocontrol de *T. absoluta* potencialmente efectivo a ser utilizado en el CB de esta plaga en la Argentina basado en liberaciones aumentativas en el cultivo de tomate y también mediante estrategias de conservación. Además, brinda perspectivas del uso del parasitoide en programas de CB aumentativo destinados al control de *T. absoluta* sobre el cultivo de berenjena, pudiendo aplicarse en aquellos predios hortícolas en donde estén presentes ambos cultivos. Esto contribuiría a preservar las interacciones plaga-enemigos naturales y a reducir el control químico en importantes agroecosistemas hortícolas de la Argentina.

Abstract

Agroecology emerges as a new paradigm to cope with societal and environmental problems that arose from the practice of conventional agricultural techniques, and proposes increasing the functional diversity of agroecosystems, by optimizing natural processes and eliminating the use of toxic inputs, such as wide spectrum herbicides, synthetic fertilizers and pesticides. The Biological Control (BC) of pests is an alternative technique to the employment of chemical insecticides and it is considered a reliable strategy to restore functional diversity in agricultural ecosystems. By definition, BC consists in the use of one or several species of natural enemies (or “beneficial organisms”), to reduce the population density of another organism considered as a pest, by means of introducing, increasing or conserving their populations in the agroecosystem.

The insect parasitoids are a special group of natural enemies, whose larval stage lives as a parasite at expenses of one individual host - usually other insect - that dies as a product of such interaction. They are valued by their ubiquity, searching efficiency, and by their specialization on few host species; besides, most successful cases of establishment and control of pests included parasitoids as biocontrol agents, in comparison with other natural enemies. Given their importance, considerable research has been done regarding the factors that improve their presence and abundance, and among them, the occurrence of plant species that provide floral and refuge resources for the adult stage.

The tomato crop *Solanum lycopersicum* L. (Solanales: Solanaceae) constitutes one of the main agricultural activities in Argentina, particularly in La Plata Horticultural Belt (CHP), in Northeastern Buenos Aires province. There exists a complex of pests associated to this crop that greatly decreases production yield, and it is conformed by whiteflies, thrips, the “two spotted” spider mite and a known as “the South American tomato leafminer” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae).

Tuta absoluta is one of the important native tomato pests in the Neotropics, and since last decade it became a worldwide threaten to this crop, after its introduction and subsequent distribution in countries of the Mediterranean Basin, Africa and Asia. The crop damage is caused by the endophytic habit of the larval stage, feeding mainly in leaves but also attacking stems and fruits, what diminishes the comercial value of the fresh tomato in markets. Although *T. absoluta* is a main pest of tomato crops, other solanaceous species are mentioned in the literature as plant hosts of the leafminer, such as the crops: *Solanum tuberosum* L., *S. melongena* L. and *Nicotiana tabacum* L., as well as the wild species: *Datura ferox* L., *Salpichroa organifolia* (Lam.) Baill., *S. sisymbriifolium* Lam. , *S. nigrum* L. and *N. glauca* L.

To date, phytosanitary management against *T. absoluta* in South America has been predominantly based on the use of synthetic pesticides. Because of the numerous negative effects of these products, BC is gaining interest as a plant protection technique in all regions where the pest is present.

There exist reports of a rich natural enemies complex for *T. absoluta* in South America that attacks the different developmental stages of this pest. Particularly for Argentina, knowledge on the endoparasitoid *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae), a main species among the larval parasitoids of *T. absoluta*, points out a priori several positive biological characteristics to be considered as a BC agent in the CHP region.

The general objective of this Thesis work is the Biological Control of *T. absoluta* by means of the use of the native endoparasitoid *P. dignus* at farm scale, in the CHP region. The specific objectives were to: 1) Understand the trophic relationships established among *T. absoluta* (or other Gelechiidae), the parasitoid *P. dignus*, and crop and noncrop Solanaceae (excluding *S. lycopersicum*); 2) Depict a quantitative parasitoid trophic web for the pest *T. absoluta* inhabiting crop and noncrop Solanaceae; 3) Estimate *T. absoluta* mortality in greenhouse tomato by means of different releasing rates of *P. dignus*, at experimental scale; 4) Estimate flying capacity and host searching by *P. dignus* females in an experimental greenhouse; and 5) Evaluate several biological attributes (developmental

time, fecundity, longevity) and parasitism behavior (functional response) of *P. dignus* attacking *T. absoluta* in eggplant under laboratory conditions.

To address the first two objectives, seven tomato farms were chosen in the CHP for monthly sampling of gelechiid species on crop and noncrop solanaceous plants, among the years 2013 and 2015, with the aim of elucidating trophic networking of *T. absoluta* (or other gelechiids) and the parasitoid *P. dignus*, when the hosts feed on those plants. Results showed that the interaction *T. absoluta* - *P. dignus* is part of a complex trophic web, conformed by cultivated and wild solanaceous species, *T. absoluta* and other gelechiids, and *P. dignus* and other larval parasitoids. Besides, the wild species *N. glauca*, *S. americanum*, and *S. sisymbriifolium* could help maintaining the interaction *T. absoluta* - *P. dignus* in eggplant and tomato crops. Further, it was evidenced that *P. dignus* exhibits a greater specificity towards *T. absoluta*, independently of the host plant it uses.

The evaluation of this biological control agent by augmentative releasing rates was carried out in experimental tomato greenhouses at the Gorina Experimental Station (Ministry de Agriculture, Buenos Aires Province), during three cropping seasons (2013-2015). By means of confined releases in cages enclosing single plants, *T. absoluta* mortality (% parasitism) was estimated. Different pest and adult female wasp densities were tested. *P. dignus* flying capacity and host searching were also determined experimentally. The study revealed that for a density of 10 hosts per plant, the release rate of 3 parasitoid females yielded a higher percentage of parasitism than greater rates, suggesting that the biocontrol of *T. absoluta* could be affected by mutual interference of numerous adult parasitoid females in the experimental unit. At lower host densities, release rates of 1 or 2 *P. dignus* wasps did not affect the percentages of parasitism reached, meanwhile at the lowest host density tested (2 larvae per plant) parasitism was not registered, an indication that host searching efficiency diminishes at smaller host densities.

Finally, *P. dignus* fitness on *T. absoluta* was evaluated in eggplant, a cultivated species also attacked by this pest, through laboratory assays. *P. dignus* developed slower (~ 5d), the female lived shorter (~ 2d), had a longer reproductive period (~ 4d), and

a lower fecundity (estimated as the number of cocoons formed) when reared on *T. absoluta* fed on *S. melongena* plants than on *S. lycopersicum*. Functional response of *P. dignus* on eggplant was density-independent of the host density offered, as in tomato plant.

To conclude, *P. dignus* can be considered a potentially effective biocontrol agent of *T. absoluta* for the BC of this pest in Argentina, based either by augmentative releases or by conservation strategies. Besides, the study suggests that the use of this parasitoid in augmentative BC to manage *T. absoluta* in eggplant crops could be factible, and even its multi-fold use in both solanaceous crops, commonly practiced jointly in CHP farms. This would contribute to preserve pest-natural enemies interactions and to reduce chemical control in main argentinian horticultural agroecosystems.

Capítulo 1

Introducción General

1.1 Marco teórico

La agricultura moderna, también denominada convencional o industrial, ha logrado un incremento significativo de la producción agrícola; no obstante enfrenta una importante crisis causada por los serios problemas sociales y ecológico-ambientales que ella ocasiona. Entre las consecuencias más visibles de este modelo productivo se encuentran el empobrecimiento de las economías regionales de pequeños y medianos productores, la marginación de comunidades rurales campesinas y campesino-indígenas, el deterioro en la salud de la población rural, y la pérdida de seguridad y soberanía alimentaria. En relación al ambiente, pueden mencionarse la deforestación, la pérdida de biodiversidad, y la contaminación de suelos, aire y agua. Por otro lado, este modelo genera considerables beneficios económicos para unos pocos sectores: grandes productores, inversionistas ("pool de siembra"), empresas, principalmente multinacionales proveedoras de los insumos del paquete tecnológico y, en especial, los grandes exportadores (Sánchez, 2012).

La homogenización espacial y temporal es inherente a este sistema de producción, debido a una visión reduccionista del agro-ecosistema que lleva a simplificar el mismo a unas pocas especies de interés económico (Viglizzo, 2011). Esto conduce a la pérdida de hábitats y especies, resultando la mayoría de las veces en una disminución y/o eliminación de importantes procesos ecosistémicos, entre los que se encuentran el control natural de herbívoros por sus enemigos naturales (Fig. 1.1) (Tilman et al. 2002; Benton et al. 2003; Tscharntke et al. 2005; Power, 2010).

Estos sistemas artificiales creados por el hombre, difieren de los ecosistemas naturales (Tabla 1.1), y son muy dependientes de insumos, en especial de plaguicidas, dado que las plagas suelen convertirse en una de las principales limitantes productivas (Gliessman, 2001).

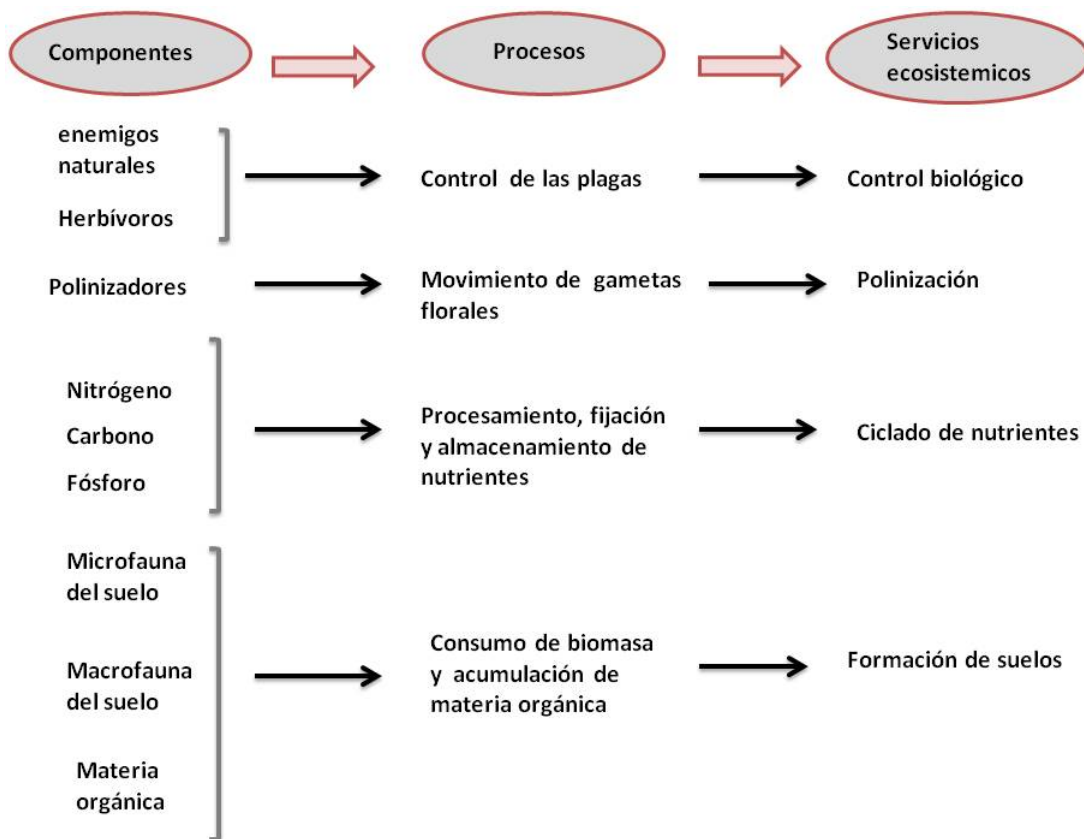


Figura 1.1. Componentes, procesos y servicios ecosistémicos (elaboración en base a Altieri, 1992; Constanza et al. 1997).

Tabla 1.1. Diferencias de estructura y función entre agro-ecosistemas y ecosistemas naturales (modificado de Odum, 1969 y Gliessman, 2001).

<i>Agro-ecosistema</i>	<i>Ecosistema natural</i>
– Producción neta alta	– Producción neta media
– Cadenas tróficas simples	– Cadenas tróficas complejas
– Diversidad específica baja	– Diversidad específica alta
– Heterogeneidad del hábitat simple	– Heterogeneidad del hábitat compleja
– Estabilidad y resiliencia bajas	– Estabilidad y resiliencia altas
– Permanencia temporal corta	– Permanencia temporal larga
– Control humano necesario	– Control humano independiente
– Gran aporte de insumos	– Reciclaje de energía y nutrientes

Dentro de la agricultura convencional, el control químico, fundamentalmente de herbicidas y plaguicidas, es considerado una de las únicas vías posibles para el manejo de plagas, a pesar de las consecuencias negativas del uso de estos productos para la salud humana y el ambiente.

En lo que respecta a la salud humana, numerosos trabajos científicos reportan la asociación entre el uso de distintos agrotóxicos empleados en la agricultura con la ocurrencia de cáncer (Mac Lennan et al. 2002; De Roos et al. 2005), linfoma no Hodgkin (Hardell et al. 2002), muerte de células umbilicales, placentarias y embrionarias (Benachour & Séralini 2009) y malformaciones congénitas (Benítez-Leite et al. 2009), entre otros.

En cuanto al ambiente, se destaca la contaminación de aire, suelos, cuencas y cuerpos de agua subterráneas y superficiales (Vera et al. 2010; De Gerónimo et al. 2014, Informe Defensor del Pueblo, 2015), con el consiguiente riesgo para los animales invertebrados y vertebrados que habitan estos ambientes (Relyea, 2005; Schneider et al. 2009; Santadino et al. 2014; Benamú et al. 2010; Paganelli et al. 2010).

En particular, en lo que al control de plagas se refiere, los plaguicidas de síntesis pueden causar el desarrollo de resistencia (Thacker, 2002; Nicholls Estrada, 2008), la eliminación de organismos benéficos (polinizadores, enemigos naturales, etc.) (Altieri, 1994; Constanza et al. 1997; Thies & Tscharntke, 1997; Gliessman et al. 2007) y ocasionalmente, la aparición de plagas secundarias (Pimentel & Lehman, 1993; van Lenteren & Bueno, 2003).

Debido a las múltiples externalidades que presenta la agricultura moderna, surge el desafío de buscar alternativas a este modelo netamente economicista que pone énfasis en maximizar la producción a corto plazo y que resulta altamente insustentable desde el punto de vista ambiental y social (Teubal et al. 2005). Un paradigma alternativo es la Agroecología, disciplina científica basada en una filosofía distinta a la agricultura convencional que enfoca el estudio de la agricultura con una visión holística y desde una perspectiva ecológica. Ésta tiene como objetivo desarrollar modelos de producción sustentables mediante una tecnología basada en procesos ecológicos más que en insumos, apropiada ambientalmente y, muy importante también, apropiable por los productores locales (Sarandón, 2002; Gliessman, 2001; 2007; Altieri, 2009; Sevilla Guzmán & Soler Montiel, 2009).

Dentro de este marco, los organismos potencialmente plaga son considerados un componente más del agro-ecosistema, que interactúan y se relacionan con otros organismos a través de procesos de competencia, depredación y parasitismo, y con el entorno.

1.1.1 Manejo Integrado de Plagas (MIP) y Manejo Ecológico de Plagas (MEP)

El **Manejo integrado de Plagas** (MIP) (Tabla 1.2), entre cuyos precursores podrían citarse a Stern et al. (1959) y a van den Bosch & Stern (1962), representa un enfoque multidisciplinario alternativo al uso exclusivo de plaguicidas químicos. Se basa fundamentalmente en la combinación de métodos químicos, biológicos y culturales, con el objetivo de reducir las poblaciones de las plagas a niveles tolerables, minimizando el

uso de plaguicidas sintéticos y dando prioridad a medidas biológicas, biotécnicas y de fitomejoramiento (Kogan, 1986). Su implementación requiere entender la biología y el comportamiento de las plagas y de sus enemigos naturales, desarrollar técnicas de monitoreo de los mismos e incorporar el concepto de nivel de daño económico de la plaga en las decisiones de manejo.

El MIP representa un avance en el manejo de plagas en relación a la preservación del ambiente. Sin embargo, el objetivo de priorizar la ganancia económica ligada a la producción agrícola a escala industrial sigue primando en la generación de conocimientos científicos para la toma de decisiones de manejo de plagas de los cultivos (Brechelt, 2004).

Por tal razón, durante la década del '90, comenzó a surgir dentro del marco de la Agroecología, el **Manejo Ecológico de Plagas** (MEP), el cual representa un nuevo paradigma que evita el uso de plaguicidas químicos (Tabla 1.2), y propicia la implementación de técnicas que promuevan los servicios ecosistémicos tales como el control biológico (Vázquez Moreno, 2010; Brechelt, 2004) (Fig. 1.1).

Tabla 1.2. Diferencias y semejanzas entre el MIP y el MEP (modificado de Brechelt, 2004).

Manejo Integrado de Plagas (MIP)	Manejo Ecológico de Plagas (MEP)
<p><i>Control Cultural:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cultivos o franjas trampa • Rotaciones • Mezcla de cultivos • Variedades resistentes 	<p><i>Control Cultural:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Control manual de insectos • Rotación y asociación de cultivos • Medidas de control mecánicas y físicas • Variedades resistentes • Barbecho • Eliminación de plantas enfermas • Franjas trampa
<p><i>Control Biológica:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Control Biológico Clásico • Control Biológico Aumentativo • Control Biológico por Conservación 	<p><i>Control Biológica:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Conservación de los EN de las plagas • Aumento de organismos benéficos
<p><i>Control química:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Uso de insecticidas racionales, selectivos y biodegradables <p><i>Otras técnicas con base biológica:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Trampas de feromonas • Técnica del macho estéril • Semioquímicos 	<p><i>Control con principios biológicos:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Control con plantas insecticidas: Extractos, aceites de plantas con propiedades insecticidas, reguladores de crecimiento, repelentes de las plagas • Semioquímicos: Kairomonas - Estrategia Push-Pull

El enfoque agroecológico resulta de particular interés para este trabajo de Tesis, ya que aborda la problemática de las plagas desde una perspectiva ecológica y en un marco de sustentabilidad. En este sentido, se hace hincapié en los sistemas productivos donde se fomenta la diversidad de especies animales y vegetales, con énfasis en la dinámica de los distintos procesos ecológicos (Altieri, 2002; Pérez Consuegra, 2004).

1.1.2 Concepto de plaga agrícola

Se considera plaga agrícola a la población de una especie fitófaga que debido a su abundancia causa una disminución en el rendimiento de un cultivo o que deteriora su calidad.

Existen varias hipótesis que explican cómo las poblaciones de los fitófagos pueden llegar a convertirse en plagas. Entre ellas, se pueden citar las de la **concentración del recurso** y la de los **enemigos naturales** (Root, 1973), que atribuyen la aparición de plagas a la gran concentración del alimento que representa un cultivo para un fitófago oligófago, y a la disminución y/o desaparición de los enemigos naturales (depredadores y parasitoides) en los cultivos, respectivamente. Otras causas pueden ser también, los cambios físicos en el ambiente, los cambios genéticos o fisiológicos dentro de una población, la introducción de nuevos cultivos, etc (Pérez Consuegra, 2003).

1.1.3 Nivel de Daño Económico y Umbral Económico

Existen dos parámetros fundamentales a tener en cuenta en el momento de tomar decisiones de manejo de una plaga: el nivel de daño económico (NDE) y el umbral económico o umbral de acción (UE) (Figura 1.2).

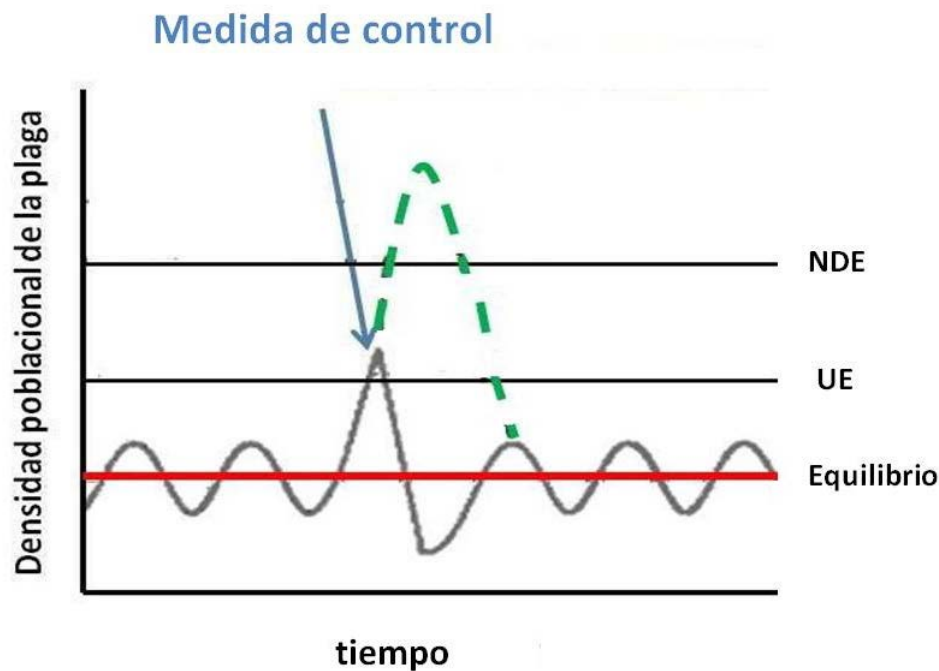


Figura 1.2. Nivel de Daño Económico y Umbral Económico. En línea punteada se indica el crecimiento potencial de la plaga de no aplicarse ninguna medida de control (Elaboración personal).

El NDE corresponde a la densidad poblacional de un organismo fitófago por encima de la cual se produce una pérdida económica. Este nivel fue definido por Stern et al. (1959) como: “El menor nivel de densidad poblacional de una plaga que causará daño económico, o la cantidad de daño que justifica el costo de control”.

En tanto, el UE es entendido como la densidad poblacional de la plaga en la cual se debe iniciar la acción de control para evitar que la población llegue a sobrepasar el NDE (Thacker, 2002).

Estos conceptos, si bien han sido tradicionalmente asociados al manejo convencional de plagas en la agricultura moderna (Jetter, 2005; Forero, 2006), su estimación en programas de MIP e incluso MEP es relevante (Higley & Pedigo, 1996; Bretchel, 2004). No obstante, en este último sería importante tener en cuenta para su

determinación no sólo a la densidad de la plaga, sino también otros factores tales como la fenología del cultivo en el momento del ataque, las condiciones del mercado, el costo del control, las prácticas agronómicas llevadas a cabo, la zona geográfica, etc. (Greco et al. 2002).

1.1.4 El control biológico como estrategia de manejo de plagas

El **control biológico** (CB) constituye uno de los pilares más importantes de la agricultura sustentable, siendo utilizado actualmente en varios países del mundo (van Lenteren, 2012a). Además, en un sentido estrictamente ecológico, es considerado una técnica viable ya que se intenta restaurar la biodiversidad funcional en los ecosistemas agrícolas (Altieri & Nicholls, 2000).

Van des Bosch et al. (1982) se refirió al CB como la manipulación de los enemigos naturales (EN) por parte del hombre con el fin de controlar a las plagas agrícolas, diferenciándolo del control natural, que ocurre espontáneamente en la naturaleza sin la intervención humana. Según la *International Organization for Biological Control* (IOBC <http://www.iobc-global.org>), el CB se define como la utilización de organismos vivos o sus productos para prevenir o reducir las pérdidas o daños causados por organismos plaga.

Para el éxito de este tipo de programas, resulta fundamental identificar cuáles son los factores que limitan las poblaciones de EN o que influyen de una manera negativa sobre su capacidad de control.

En términos generales, los EN de plagas agrícolas (también llamados “biocontroladores” u “organismos benéficos”) pueden clasificarse según sus características y modo de acción en **entomófagos** (depredadores y parasitoides) y **entomopatógenos** (virus, bacterias, hongos y nematodos) (van Driesche et al. 2007; Jacas & Urbaneja, 2008) (Fig. 1.3). Dentro del primer grupo, los **depredadores** se caracterizan por ser especies generalistas, que se alimentan de distintos tipos de presas, mostrando en muchos casos este hábito alimenticio tanto los estados inmaduros como los adultos. Entre los principales grupos taxonómicos se pueden mencionar especies de

Coleoptera, Heteroptera, Diptera, Hymenoptera, Neuroptera, Araneae y Acari; en tanto que los **parasitoides**, en comparación con los depredadores, son organismos más especialistas en lo que se refiere al estado/s del hospedador atacado, y también al grupo taxonómico de hospedadores que parasitan, resultando en un rango de especies hospederas más estrecho. Son todas especies holometábolos, principalmente de Hymenoptera y Diptera, cuyo estado larval vive a expensas como parásito de un individuo huésped, usualmente otro insecto, el cual muere en dicha interacción, mientras que las formas adultas son de vida libre. Finalmente, dentro del grupo de los **entomopatógenos** están incluidos aquellos microorganismos, a excepción de los nematodos parásitos, que poseen una alta especificidad por el huésped al que le inducen algún tipo de enfermedad. Estos incluyen especies de Baculoviridae (*virus*), *Bacillus thuringiensis* (*bacterias*), y *Beauveria* sp., *Entomophaga* sp., *Metarhizium* sp. (*hongos*) (Fig. 1.3).

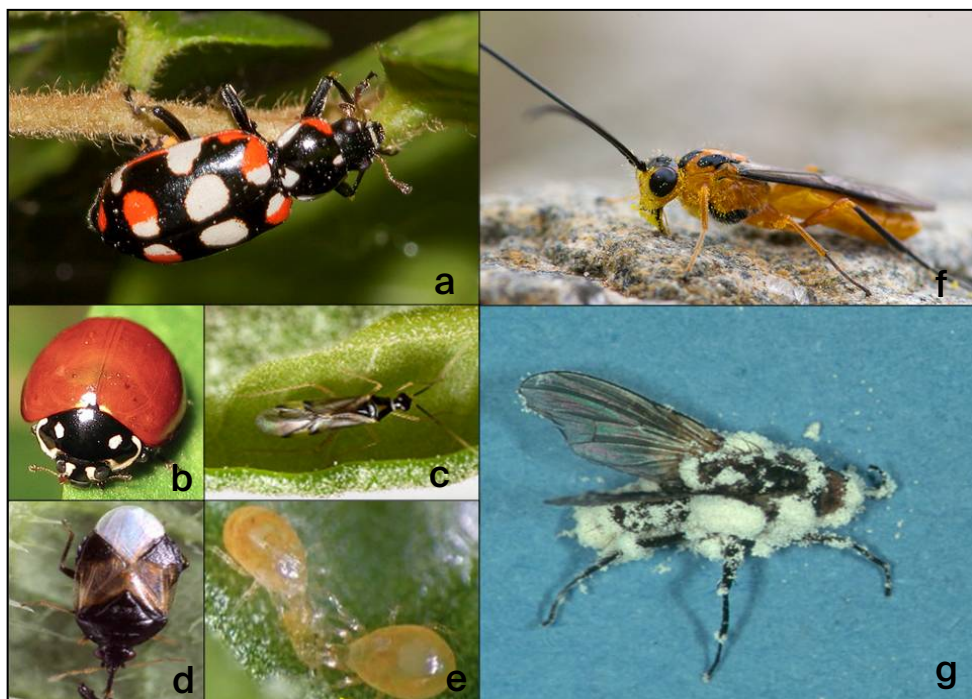


Figura 1.3. Enemigos naturales, **a y b**- adultos de coccinélidos depredadores; **c y d**- adultos de hemípteros depredadores; **e**- ácaros depredadores; **f**- adulto de himenóptero parasitoide; **g**-hongo entomopatógeno atacando a un díptero adulto.

Existen distintas formas de manipular a los EN dentro de los agroecosistemas, las que conforman tres tipos diferentes de estrategias de CB (Bellows & Fisher, 1999; Coombs & Coombs, 2003; van Driesche et al. 2007; Jacas & Urbaneja, 2008).

El **Control Biológico Clásico**, entendido como la introducción de una especie exótica a una nueva región biogeográfica, con el objetivo de controlar a una plaga también de origen exótico.

El **Control Biológico Aumentativo**, basado en incrementar la abundancia de algún EN que ya se encuentra establecido en el sistema pero en número insuficiente para ejercer un control eficaz sobre la plaga. El mismo puede lograrse a partir de: 1) suestras inundativas, en donde un gran número de individuos (> 100.000) es liberado para ejercer un control casi inmediato sobre la plaga, con un mecanismo de acción similar a un insecticida, o 2) sueltas inoculativas (entre 1000-10.000 individuos por liberación), las cuales son realizadas de manera periódica, en distintos momentos del ciclo del cultivo, para que el control sea ejercido por la descendencia de los EN liberados. Entre las limitaciones que presenta este tipo de CB, se encuentran el costo de la producción de EN para liberar y la evaluación de la efectividad de los mismos en el campo (Bellows & Fisher, 1999; van Driesche et al. 2007). En todos los casos, para que el CB aumentativo pueda resultar efectivo es necesario que el sistema ofrezca las condiciones necesarias para la supervivencia y desarrollo de los organismos.

Finalmente, desde el punto de vista ecológico resulta de particular interés el **Control Biológico por Conservación**, en el que, a diferencia de los anteriores, no se realizan liberaciones de EN, sino que se usan técnicas para otorgar refugio y aumentar la supervivencia y reproducción de los mismos en el agroecosistema. Esto puede ser logrado a partir de modificaciones del hábitat, o de las prácticas existentes, intensificando las acciones biológicas y beneficiando los procesos naturales que protejan y favorezcan a EN específicos, a fin de reducir el efecto de las plagas (Restrepo, 1996; Eilenberg, 2006; Barbosa, 1998). El aumento de la diversidad vegetal es relevante en el CB por Conservación ya que mediante técnicas de policultivos, cultivos intercalados,

asociaciones vegetales, etc., se logra, en muchas circunstancias, disminuir la abundancia de ciertas plagas (van Driesche et al. 2007).

Existen numerosas evidencias de que el manejo de la vegetación espontánea presente en los predios de cultivo o en sus alrededores promueve una serie de servicios ecosistémicos. Entre ellos: 1) el control natural de las plagas por parte de sus EN, proporcionando los recursos necesarios para la supervivencia de los mismos, tales como refugio, sitios de oviposición y fuentes alternativas de alimento; 2) la disminución de la contaminación del aire, del suelo y del agua, debido a la menor aplicación de agroquímicos; 3) el aumento en la velocidad del flujo de nutrientes y 4) la disminución de la erosión del suelo, entre otros (Powell, 1986; Andow, 1991; Gurr et al. 2003; Fiedler et al. 2008; Díaz et al. 2012).

El CB es una herramienta especialmente exitosa en cultivos perennes (forestales, frutales), algunos extensivos e intensivos protegidos (van Driesche et al. 2007). En particular en cultivos hortícolas, ha sido utilizado desde hace más de 100 años en distintas partes del mundo, mostrando durante las últimas décadas un notable incremento ligado al aumento de la tecnología del invernáculo (Pilkington et al. 2010). De este modo, entre los años 1970 y 1995 el área de cultivos bajo cubierta sujeta a esta estrategia de control pasó de 200 a 14.000 ha, elevándose a 20.000 ha en el año 2000 sólo para España (van Lenteren, 2012b). Asimismo, la producción industrial de agentes de control biológico aumentó a más de 200 especies entre depredadores y parasitoides (van Lenteren, 2012a).

Entre las regiones que más utilizan esta estrategia se encuentran: Europa, Norteamérica, China, Japón y Nueva Zelanda (van Lenteren, 2000; Stiling & Cornelissen, 2005; Li et al. 2014). En tanto que para América Latina, el CB muestra un desarrollo creciente, contando hasta el momento con varios programas en ejecución, sobre todo en México, Colombia, Chile y Brasil (van Lenteren & Bueno, 2003; van Lenteren, 2012a).

En la Argentina, el CB fue implementado históricamente sobre cultivos extensivos, con un primer registro de CB clásico en el año 1908 (Zapater, 1996; Cabrera Walsh et al.

2012). En la actualidad se está intentando ampliar su uso en cultivos hortícolas y forestales, y para ello se están llevando a cabo numerosos estudios destinados a la conservación de diversos EN nativos y a la evaluación de los mismos como agentes de control biológico. Cabe resaltar que el país no cuenta todavía con un desarrollo importante de biofábricas o insectarios comerciales proveedores de EN que permitan la implementación de un CB aumentativo a gran escala (van Lenteren & Bueno, 2003; Cabrera Walsh et al. 2012). Es por lo tanto, un sector agroindustrial aún incipiente, con unas pocas empresas productoras de bioinsumos específicos, de difícil acceso para el común de los productores. Con respecto a los bioinsumos de origen microbiológico, se han autorizado unos seis formulados comerciales con *Bacillus thuringiensis* para el control de varios lepidópteros plaga en cultivos hortícolas, entre ellos para el manejo de *Tuta absoluta* en tomate (SENASA, 2016).

1.1.5 Los parasitoides como agentes de CB

Los parasitoides se ubican dentro de la Clase Insecta, y en su mayoría corresponden al Orden Hymenoptera (más del 75 % de las especies conocidas con este hábito). Constituyen un grupo muy numeroso y de suma importancia debido a su ubicuidad, eficiencia de búsqueda, ataque del hospedador y a su especialización en unas pocas especies hospedadoras (Hawkins & Sheehan, 1994; Hawkins, 1994; Quicke, 1997; Wajnberg et al. 2001). Por tales razones, estos insectos han sido especialmente utilizados como agentes de CB de plagas agrícolas de los órdenes Lepidoptera, Diptera y Hemiptera (Quicke, 1997).

Los parasitoides pueden clasificarse siguiendo distintos criterios. Se distinguen por un lado a los *ectoparasitoides* y a los *endoparasitoides*, según se alimenten externa o internamente de su huésped, respectivamente; también se diferencian los *koinobiontes* e *idiobiontes*, según permitan o no continuar el desarrollo del hospedador luego de ser parasitados. En el caso de los parasitoides idiobiontes, la hembra comúnmente inyecta un veneno al hospedador con ayuda de su ovipositor para facilitar la acción del parasitismo. Finalmente, con respecto al estado de desarrollo del hospedador que suelen

atacar, se clasifican en *oófagos* (o de huevos), *de larvas*, *de pupas* y *de adultos*, según van Driesche (2007).

Históricamente los biocontroladores más utilizados han sido parasitoides especialistas, debido a que representan un menor riesgo para las especies no blanco (Louda et al. 2003). Por otro lado, aunque el interés por el uso de depredadores generalistas ha ido en aumento (Sabelis et al. 2008), hasta el momento, los parasitoides registran tasas de establecimiento y éxito de control comparativamente más altas en los programas de control biológico con respecto a otros agentes de control (Bellows & Van Driesche, 1999; van Lenteren, 2005; 2012a). Por tal motivo, la importancia de los mismos ha dado lugar a diversos estudios sobre los factores que fomentan su presencia y abundancia. Entre ellos, la disminución o supresión de productos químicos tradicionales (Thomson & Hoffmann, 2006), así como la presencia de especies vegetales que proporcionan recursos florales y refugio para los adultos (Nicholls et al. 2000; Begum et al. 2006; Smith et al. 2015), entre otros.

1.1.6 Planteo del problema

El cultivo de tomate *Solanum lycopersicum* L. (Solanales: Solanaceae) constituye una de las actividades productivas más importantes del país, tanto por su consumo y valor de producción como por la superficie destinada a su siembra (Argerich, 2011) (ver Capítulo 2). Una de las problemáticas de este cultivo es el complejo de plagas que disminuye en gran medida su rendimiento. Este complejo está conformado fundamentalmente por moscas blancas, trips, arañuela roja y el microlepidóptero denominado “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).

Si bien *T. absoluta* es una de las principales plagas de este cultivo en la región Neotropical, de donde es originaria (Luna et al. 2015), en la literatura se mencionan otras especies cultivadas hospederas, como por ejemplo “la papa” *Solanum tuberosum* L., “la berenjena” *S. melongena* L. y “el tabaco” *Nicotiana tabacum* L. (Vargas, 1970; García & Espul, 1982). No obstante, su desempeño puede variar entre los distintos cultivos (Pereyra & Sánchez, 2006). También se registra su presencia en plantas silvestres, entre ellas, el

“chamico” *Datura ferox* L., el “huevo de gallo”, *Salpichroa origanifolia* (Lam.) Baill., el “tutiá” *S. sisymbriifolium* Lam., el “tomatillo” *S. nigrum* L. y el “palán-palán” *Nicotiana glauca* L. (Galarza, 1984; Cordo et al. 2004; Desneux et al. 2010; USDA 2011).

Tuta absoluta se ha convertido a su vez en una amenaza para el cultivo de tomate a nivel mundial, como consecuencia de su reciente introducción y posterior dispersión en países de la cuenca mediterránea, África y Asia. El daño es ocasionado por la larva, de hábito minador, que se alimenta principalmente de hojas pero también ataca frutos, lo que le resta valor comercial al producto, pudiendo provocar pérdidas de hasta un 90% en el cultivo si no se adoptan medidas de control (Desneux et al. 2011) (ver Capítulo 2).

Hasta el momento, el manejo sanitario predominante de *T. absoluta* en la región de origen se basa en el uso de plaguicidas de síntesis, los que, como se ha mencionado anteriormente, son indeseables por los problemas que ocasionan, pero además para esta plaga suelen no resultar efectivos para el control debido a la rápida generación de poblaciones resistentes (Siqueira et al. 2000, Lietti et al. 2005). En este sentido, el control biológico es uno de los métodos de protección vegetal que más interés ha concitado, tanto en la región de origen de la plaga, como en aquellas que han sido invadidas (Consoli et al. 1998; Desneux et al. 2011; Luna et al. 2015).

Si bien se están llevando a cabo algunos intentos de control biológico de *T. absoluta* con distintos enemigos naturales en Brasil, Colombia, España, Italia y Bélgica (Giustolin et al. 2001; Torres et al. 2002; Mollá et al. 2010; EPPO 2012), todavía es restringido en Sudamérica el uso de entomófagos para el manejo de la misma.

Particularmente para la Argentina, los conocimientos existentes sobre uno de los principales EN de *T. absoluta* presente en los agroecosistemas locales, el endoparásitoide *Pseudapanteles dignus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae) (Colomo et al. 2002; Luna et al. 2007; Sánchez et al. 2009; Luna et al. 2015), indican, *a priori*, que el mismo posee algunas características positivas para ser considerado un agente de control (van Lenteren, 2003). Entre ellas, se destacan: 1- su presencia espontánea en cultivos tanto a cielo abierto como protegido, con manejo sanitario convencional y

orgánico; 2- buena sincronización estacional con la plaga; 3- respuesta de agregación del parasitoide a la densidad de la plaga; 4- tasa de ataque mayor a la tasa de incremento (r_m) de la plaga; 5- el estrecho rango de hospedadores; 6- la sincronización del tiempo de desarrollo de su larva con la de su hospedador; 7- la ausencia de un período de pre-oviposición de la hembra; 8- los elevados valores de parasitismo en condiciones naturales y 9- la facilidad para su cría artificial, pudiendo las pupas ser almacenadas a 10° C hasta 4 semanas (Luna et al. 2007; Sánchez et al. 2009; Vallina et al. 2012; Luna et al. 2015; Nieves et al. 2015).

Los atributos previamente mencionados de *P. dignus* justifican llevar a cabo estudios a campo para completar el conocimiento de su dinámica espacio-temporal en los predios hortícolas, así como evaluar su efectividad como agente de control de *T. absoluta*.

Para conocer su dinámica espacio-temporal se requiere determinar cómo utiliza este parasitoide los recursos en los períodos en que el tomate aún no está implantado. Considerando que *P. dignus* está presente espontáneamente en la región, establecer su rango de hospedadores en otra vegetación que cohabita en los predios agrícolas, permitirá conocer la existencia de hospedadores alternativos y de plantas que puedan servir de refugio, cuya presencia pueda ser fomentada a fin de promover su presencia, contribuyendo así a la persistencia de sus poblaciones.

Por otra parte, la evaluación de su efectividad como agente de control de *T. absoluta* permitirá concluir sobre la posibilidad de la manipulación del hábitat para la conservación de este parasitoide y la implementación de liberaciones aumentativas. Estas acciones podrían hacer posible la eliminación del uso de plaguicidas sintéticos en el cultivo de tomate priorizando el control biológico.

El reemplazo de los agrotóxicos, además del beneficio socioambiental, será provechoso para el agroecosistema en general, reduciendo el impacto sobre otros organismos “no blanco” que forman parte de la trama trófica, como por ejemplo otros

enemigos naturales e insectos polinizadores, que aportan servicios ecosistémicos de gran importancia (Bigler et al. 2006) (Fig. 1.1).

1.1.7 Hipótesis y predicciones generales

Sobre la base de los atributos biológicos y ecológicos de *P. dignus* se proponen las siguientes hipótesis generales: 1) La interacción entre *T. absoluta* y *P. dignus* es parte de una compleja trama trófica, que incluye solanáceas cultivadas y silvestres; 2) *P. dignus* es un candidato factible de ser utilizado para el control biológico de *T. absoluta* en el cultivo de tomate bajo invernáculo del Cinturón Hortícola Platense (CHP); 3) *P. dignus* presenta un buen desempeño para el control de *T. absoluta* en otras especies de solanáceas cultivadas, como por ejemplo la berenjena.

A lo largo de los distintos capítulos que componen esta tesis se pusieron a prueba las siguientes predicciones generales:

- 1- En condiciones naturales las poblaciones de *P. dignus*, a pesar del manejo convencional de los cultivos (uso de plagucidas sintéticos), persisten en los predios hortícolas, colonizando el cultivo de tomate en cada nuevo ciclo, debido a que encuentran a *T. absoluta* y otros geléquidos hospedadores fuera de los invernáculos en otras solanáceas (cultivadas y silvestres).
- 2- Algunas de las especies de geléquidos minadores presentes en las solanáceas son hospedadoras de *P. dignus* y otros parasitoides larvales.
- 3- *Pseudapanteles dignus* presenta factibilidad de ser manipulado mediante liberaciones aumentativas estacionales en cultivos de tomate bajo cubierta del CHP.

- 4- *P. dignus* cuando parasita a *T. absoluta* en berenjena exhibe atributos biológicos y de comportamiento de parasitismo similares a los que presenta en tomate.

1.1.8 Objetivo general

El objetivo general de este trabajo de Tesis es el Control biológico de *Tuta absoluta* mediante el uso del endoparásitoide nativo *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) a escala predial, en el CHP.

1.1.9 Objetivos específicos

Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- 1- Entender cómo utiliza este parasitoide los recursos fuera del invernáculo mediante el estudio de las relaciones tróficas entre *T. absoluta* (u otros geléquidos) y el parasitoide *P. dignus*, cuando el hospedador se alimenta de solanáceas cultivadas y no cultivadas presentes en los predios hortícolas donde se cultiva tomate (Capítulo 3).
- 2- Realizar una Trama Trófica Cuantitativa de parasitoides para la plaga *T. absoluta* sobre solanáceas cultivadas y no cultivadas (Capítulo 3).
- 3- Estimar la mortalidad (% de parasitismo) de la plaga en invernáculos mediante distintas tasas de liberaciones de *P. dignus*, a escala experimental (Capítulo 4).
- 4- Estimar la capacidad de vuelo y búsqueda del hospedador por parte de las hembras de *P. dignus*, dentro de un invernáculo experimental (Capítulo 4).

- 5- Determinar algunos atributos biológicos (tiempo de desarrollo, fecundidad, longevidad) y de comportamiento de parasitismo (respuesta funcional) de *P. dignus* atacando a *T. absoluta* en berenjena bajo condiciones de laboratorio (Capítulo 5).

Capítulo 2

Sistema de Estudio

2.1 El cultivo de tomate

2.1.1 Generalidades

El tomate, *Solanum lycopersicum* L. (Solanales: Solanaceae), es originario de la zona andina del continente americano y su domesticación tuvo lugar en México durante el Siglo XVI (Argerich & Troilo, 2010). Posteriormente fue introducido en Europa por los colonizadores y desde allí se difundió hacia países asiáticos y africanos, reingresando a Estados Unidos y Canadá (Escalona et al. 2009).

Actualmente, su cultivo ha alcanzado una enorme expansión a nivel mundial, siendo consumido en grandes cantidades como tomate fresco, o en distintos tipos de jugos y salsas (Argerich & Gaviola, 2011). Después de la papa (*Solanum tuberosum* L.), el tomate es la hortaliza de la familia de la Solanáceas más cultivada en el mundo.

Si bien el cultivo de tomate, ya sea bajo la modalidad de invernáculo, a cielo abierto o industrial (Fig. 2.1, 2.2 y 2.3), se adapta a una amplia gama de condiciones climáticas es muy sensible a las heladas, lo que determina su ciclo anual de producción. Las temperaturas óptimas para su desarrollo son: T° nocturna: 15-18 °C; T° diurna: 24-25 °C; T° de floración: 21°C; y T° de crecimiento vegetativo: 22-23 °C (Rodríguez Rodríguez et al. 1989).



Figura. 2.1. Cultivo comercial de tomate, *Solanum lycopersicum*, vista de cultivo bajo invernáculo.



Figura. 2.2. Cultivo comercial de tomate, *Solanum lycopersicum*, vista a cielo abierto.



Figura. 2.3. Cultivo industrial de tomate (Fuente: Cartilla electrónica cultivares de tomate, año 2016, INTA, Ministerio de Agroindustria).

La planta de tomate es herbácea (Fig. 2.4), ramificada, pubescente, y puede alcanzar hasta los 2,5 metros de altura, dependiendo de la variedad (Parodi, 1964). Presenta un sistema radicular formado por una raíz pivotante principal, raíces adventicias y ramificaciones. Un tallo recubierto en toda su longitud por pelos glandulares, erguido durante las primeras etapas de desarrollo y decumbente luego como consecuencia del peso (Argerich & Troilo, 2010). Las hojas son compuestas e insertas en forma alterna sobre los nudos, con 7-9 folíolos peciolados, lobulados y con borde dentados, y al igual que el tallo están recubiertas por pelos glandulares. Las flores forman inflorescencias, en tanto que el fruto, parte comestible de la planta, puede ser de color amarillo o rojo, redondeado, achatado o en forma de pera, con una superficie lisa o asurcada y de tamaño muy variable según la variedad (Rodríguez Rodríguez et al. 1989). La planta, y sobre todo el fruto, tienen compuestos volátiles característicos, que junto con los ácidos orgánicos y azúcares, otorgan el aroma y sabor del mismo (Baldwin et al. 2008). Desde el punto de vista alimenticio, el fruto del tomate es valorado por su escasa cantidad de calorías y por su alto contenido en agua. Además, es una fuente importante de vitamina C

y de potasio, contiene azúcares simples, ácido fólico y un potente antioxidante como el licopeno (Argerich, 2011).

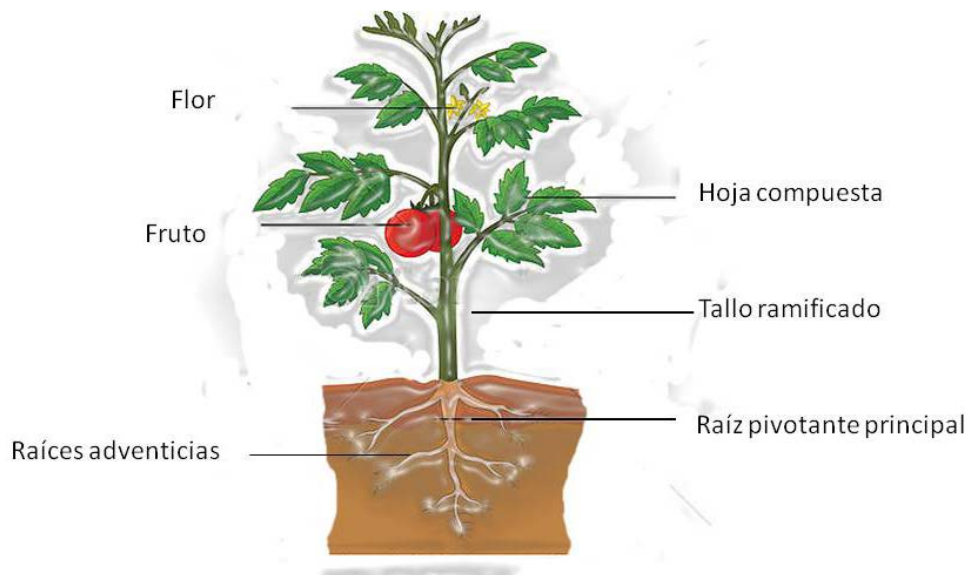


Figura. 2.4. Morfología de la planta de tomate.

De acuerdo a la Base de Datos de Nutrientes reportada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en 2009, el valor nutricional de 100 gramos de tomate maduro crudo corresponden a unas 18 kcal; y contienen 0,88 g de proteínas, 0,2 g de lípidos, 3,92 g de carbohidratos, 94,50 g de ; agua, vitaminas y minerales.

2.1.2 Fenología del cultivo

Los cultivares se distinguen por el desarrollo del tallo, existiendo básicamente dos tipos de crecimiento (Pérez et al. 2002; Argerich & Troilo, 2010):

- **cultivares de crecimiento determinado o definido:** en ellos, una vez que se han producido varias inflorescencias laterales, el crecimiento del tallo principal se detiene como consecuencia de la formación de una inflorescencia terminal.

- 🍅 **cultivares de crecimiento indeterminado o indefinido:** poseen en su ápice tejido meristemático proliferativo responsable de un alargamiento continuado del tallo principal. Las variedades con crecimiento indeterminado son características de plantaciones en invernáculo.

Respecto a la fenología del cultivo pueden distinguirse las siguientes etapas (Pérez et al. 2002):

- 🍅 **Inicial (hasta 21 días):** se desarrolla la plántula.
- 🍅 **Crecimiento vegetativo (25 a 30 días):** hojas y ramas en crecimiento y expansión.
- 🍅 **Floración (50-80 días).**
- 🍅 **Fructificación y maduración:** primera cosecha: entre los 75 a 80 días después del trasplante para variedades de crecimiento determinado y entre 85 y 90 días para variedades indeterminadas (Goites, 2008).

2.1.3 Situación del Cultivo de Tomate en el mercado

La producción mundial de tomate alcanza un valor de 160 millones de toneladas anuales, teniendo a China, EE.UU, Turquía, India e Italia como los principales países productores (Tabla 2.1). La Argentina ocupa el 23º lugar en cuanto a producción, con unas 700.000 toneladas anuales (FAO, 2002; Argerich, 2015).

Tabla 2.1. Producción mundial de tomate (Fuente: F.A.O).

Países	Producción tomates año 2002 (toneladas)
China	25.466.211
Estados Unidos	10.250.000
Turquía	9.000.000
India	8.500.000
Italia	7.000.000
Egipto	6.328.720
España	3.600.000
Brasil	3.518.163
Rep. Islámica de Irán	3.000.000
México	2.100.000

En nuestro país, son tres las variedades de tomate que se cultivan: tomate redondo, cherry y perita. Los dos primeros se destinan principalmente al consumo en estado fresco, mientras que el de tipo perita se utiliza en el proceso industrial para la comercialización de puré de tomate, tomates pelados y extracto de tomate (Corvo Dolcet, 2005).

La producción de tomate en fresco se concentra en las provincias de Buenos Aires, Salta y Corrientes, en tanto que la producción de tomate industrializado tiene a Mendoza como la principal provincia productora con un aporte del 44% de la producción nacional (Fig. 2.5) (Argerich, 2015).

Entre las principales regiones productoras de tomate en la Argentina se encuentran: Cuyo (310.000 ton), el NOA (260.000 ton), La Plata (100.000 ton) y el NEA (70.000 ton) (Fig. 2.6).

El país puede abastecerse de tomate durante todo el año. Los volúmenes más altos que ingresan al Mercado Central de Buenos Aires se registran entre los meses de agosto y enero, y provienen de las provincias de Salta (agosto-septiembre), Corrientes (octubre) y Buenos Aires (noviembre-diciembre-enero) (García, 2012). Argerich (2015) menciona que en la Argentina se consumen unos 550 millones de kilogramos de tomate anuales.



Figura.2.5. Mapa de la República Argentina, indicando las provincias y regiones productoras de tomate. (Construido en base a: Revista Idia XXI n° 4, Agosto 2003 y Argerich, 2011).

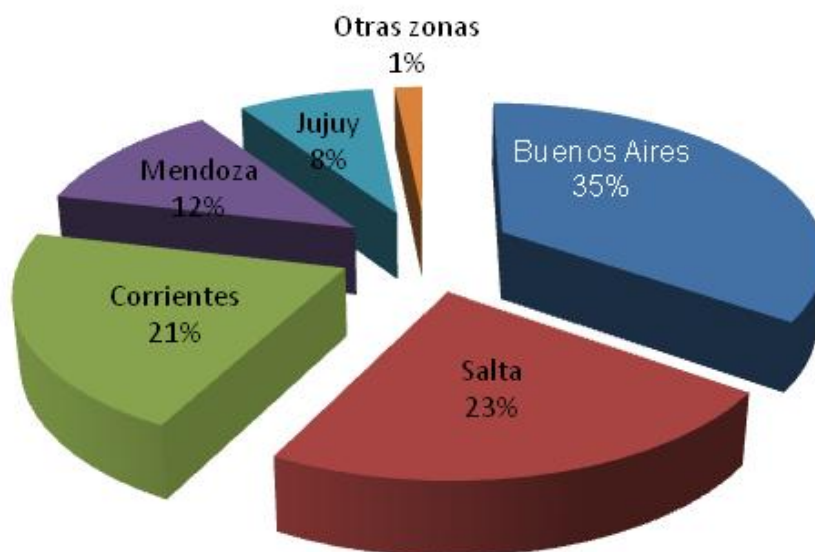


Figura. 2.6. Producción de Tomate en la Argentina (Fuente: Boletín Electrónico de tomate año 2015 Número 33, INTA. Ministerio de Agroindustria).

La producción comercial de tomate ha tenido una gran evolución en nuestro país, basada en la diversidad de variedades implantadas, en un proceso estrechamente relacionado a las demandas del mercado, y a la transición hacia el uso de variedades híbridas, capaces de retener las características más favorables de las variedades parentales (Garat, 2002). En la Tabla 2.2. se mencionan algunas de las principales variedades híbridas comercializadas en Argentina y Uruguay.

Entre los criterios que dominan la producción de variedades actuales se encuentran: mayor rendimiento, resistencia a enfermedades, facilidad de cultivo, aspecto externo del fruto (forma, color, homogeneidad), resistencia a la manipulación y transporte, y cualidades gustativas, entre otras. (Rodríguez Rodríguez et al. 1989).

Tabla 2.2. Principales variedades de tomate comercializados según Catálogo Enza Zaden Argentina-Uruguay (www.enzazaden.com)

VARIEDAD	FRUTO	CRECIMIENTO	CARACTERISTICAS
NIXE	Redondo plano de color rojo intenso y muy firme	Indeterminado	Se destaca en producciones con altas temperaturas
GRIFFY	Redondo, de buen calibre, rojo brillante muy intenso	Indeterminado	Planta de gran vigor. Apta para invernadero y campo abierto
ELPIDA	Redondo plano, de color rojo intenso y buen comportamiento post-cosecha	Indeterminado	Planta fuerte, con sistema radicular muy desarrollado. Excelente para invernadero y campo abierto. Sabor destacado. Resistente al oidio
VELOCITY	Redondo plano con buen comportamiento post-cosecha	Indeterminado	Planta con buen sistema radicular que permite soportar producciones elevadas
RALLY	Redondo plano, de gran calibre	Indeterminado	Planta muy fuerte y abierta
SALOME (Cherry)	En racimos		Con muy alta producción y resistencia al rajado. Buen comportamiento post-cosecha. Gran sabor

2.1.4 Área de estudio

El presente estudio fue realizado en el Cinturón Hortícola Platense (CHP), situado en el partido de La Plata, al noreste de Buenos Aires, Argentina (34° 56' S, 57° 59' W) (Fig. 2.7). El mismo comprende alrededor de unas 5000 hectáreas cultivadas, caracterizadas por un mosaico de granjas de agricultura intensiva, conformando el área productiva hortícola más importante del país (Argerich & Troilo, 2010; García, 2012).

El CHP se concentra en el área periurbana de la ciudad de La Plata, en las localidades de Colonia Urquiza, Los Hornos, Abasto, Lisandro Olmos, Etcheverry y El Peligro (Hang et al. 2010). Este cinturón se extiende a otros partidos vecinos, como

Florencio Varela y Berazategui e incluso Magdalena (Garat et al. 2009). Aproximadamente la mitad de la producción nacional bajo cubierta se lleva a cabo en esta región (Strassera, 2009; Pineda & Mierez, 2015), predominando los cultivos de verduras de hoja verde, tomate, pimiento, berenjena, calabaza, col, brócoli, maíz, coliflor, y frutilla (Fig.2.8).

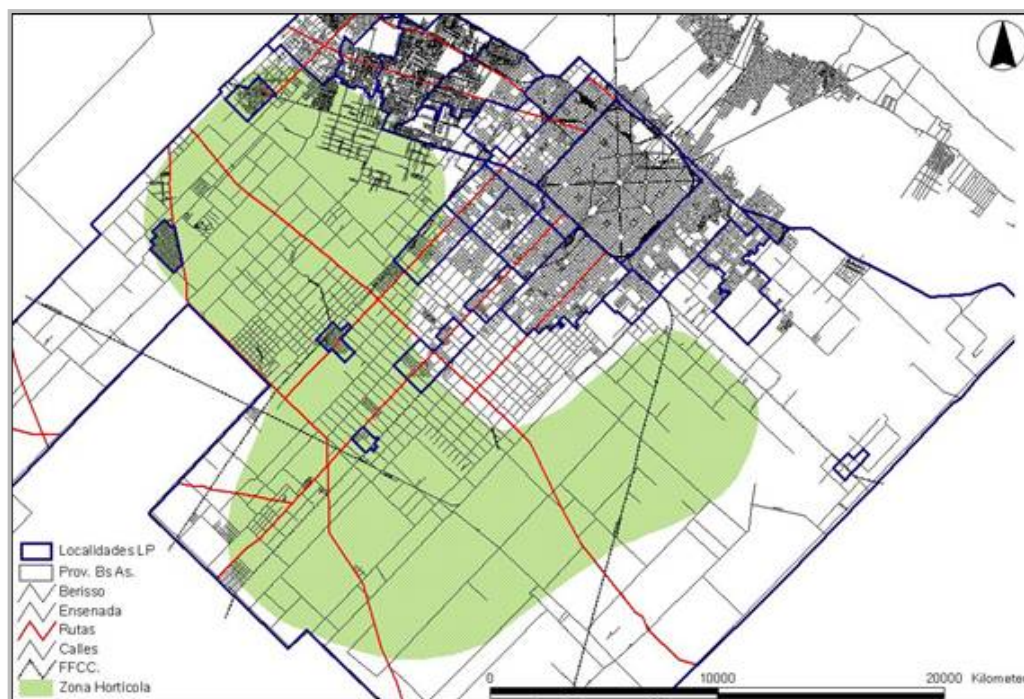


Figura. 2.7. Plano del partido de La Plata con indicación, en color verde, de los predios hortícolas que conforman el CHP (Fuente: Frediani 2010).

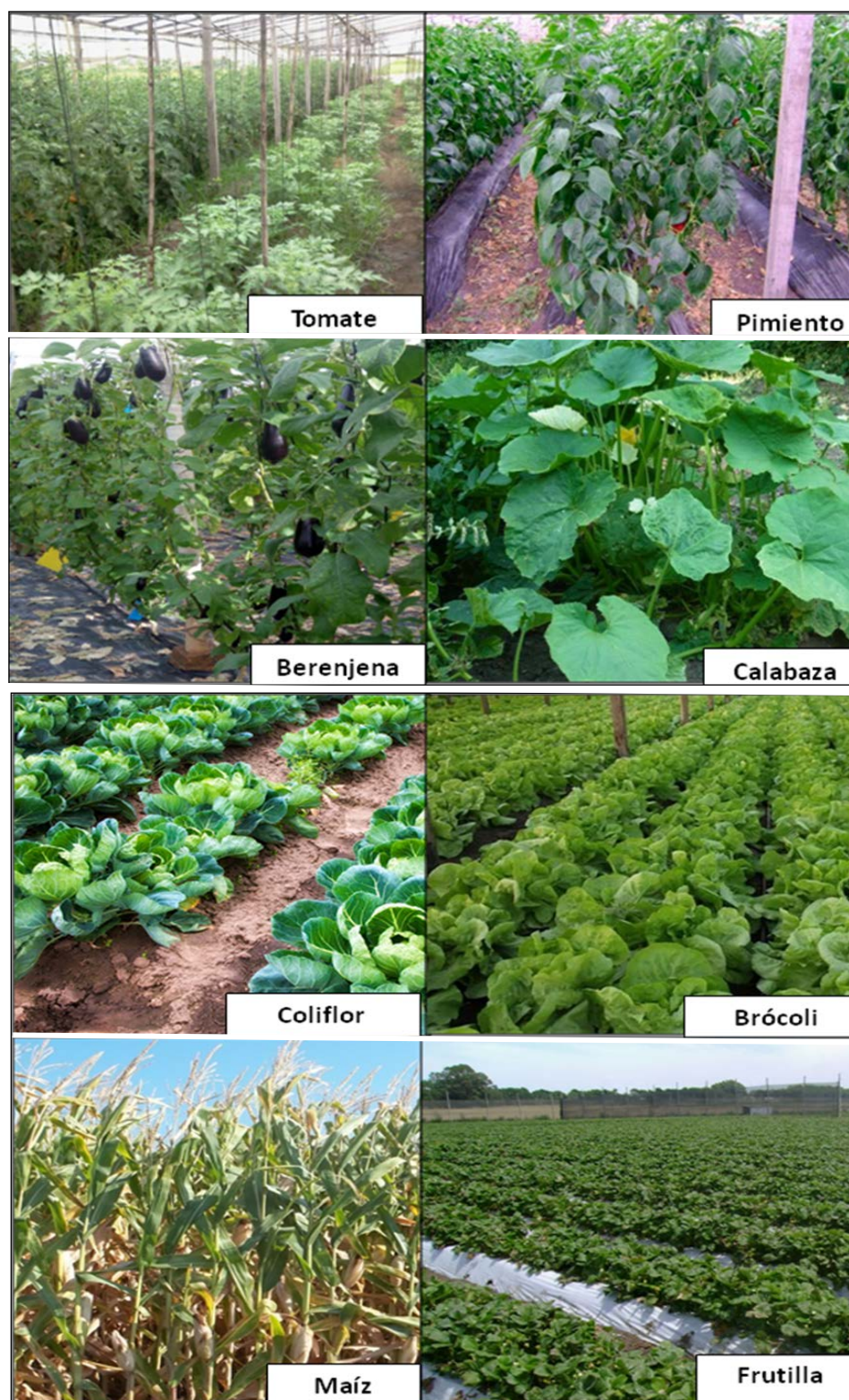


Figura. 2.8. Principales cultivos del Cinturón Hortícola Platense.

En el sistema agrícola nacional, cerca del 66 % de las explotaciones agropecuarias son manejadas por agricultores familiares y en particular en el CHP la mayoría de los predios corresponden a esta modalidad (Ferratto & Rodríguez Fazzone, 2010). La agricultura familiar es un tipo de producción en donde la unidad doméstica y la unidad productiva están físicamente integradas, siendo el producto obtenido, por lo general, dirigido al autoconsumo y al mercado conjuntamente (Villulla, 2006).

El manejo sanitario efectuado en este tipo de producción es mayormente convencional, esto es, con un uso intensivo del suelo, prácticamente sin descanso, y la utilización de una amplia gama de plaguicidas cuya aplicación se realiza por calendario, con escaso o nulo nivel de diagnóstico (Strassera, 2009, Sarandón et al. 2015).

El cultivo de tomate constituye una de las actividades productivas más importantes del CHP y se realiza según dos modalidades: a cielo abierto y bajo cubierta (Corvo Dolcet, 2005). El avance de la tecnología del invernáculo ha aumentado enormemente la producción, permitiendo un ciclo **temprano**, de agosto a diciembre y otro **tardío**, de enero a mayo (Polack, 2008; Strassera, 2009; García, 2012). En la actualidad, aproximadamente unas 1300 ha se destinan a la producción de tomate en invernáculo, lo que constituye el 43% de la producción hortícola total bajo cubierta (Pineda & Mierez, 2015).

Dentro de la diversidad de plagas que afectan al cultivo de tomate en la región la polilla del tomate, *T. absoluta*, es una de las más importantes, debido a la severidad de su daño y a la consecuente disminución en la calidad del producto (Luna et al. 2015).

2.1 La plaga *Tuta absoluta*

2.2.1 Ubicación taxonómica

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

División: Exopterygota

Clase: Insecta

Orden: Lepidoptera

Suborden: Glossata

Superfamilia: Gelechioidea

Familia: Gelechiidae

Subfamilia: Gelechiinae

Tribu: Gnorimoschemini

Género: *Tuta*

Especie: *Tuta absoluta*

2.2.2 Biología y Ecología

Se trata de un microlepidóptero perteneciente a la familia Gelechiidae. Desde su descripción original en 1917 por Meyrick como *Phthorimaea absoluta*, su posición sistemática ha sido revisada, y cambiada a *Gnorimoschema absoluta* (1962), *Scrobipalpula absoluta* (1964) y *Scrobipalpuloides absoluta* (1987). Finalmente Povolny la ubicó en el nuevo género *Tuta* en el año 1994 (Barrientos et al. 1998).

La especie es originaria de la región Neotropical (Vargas, 1970) y produce daños importantes en el cultivo de tomate en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Paraguay, Perú, Uruguay y Venezuela (Barrientos et al. 1998; Estay, 2000; EPPO, 2006).

Tras su introducción accidental en España en el año 2006 (Urbaneja et al. 2007), se expandió hacia otros países de Europa y la cuenca Mediterránea, incluyendo el Norte y Medio-Este de África (Desneux et al. 2011). Fue reportada en Italia (2008), Francia (2008),

Albania (2009), Bulgaria (2009), Portugal (2009), Países Bajo (2009), Reino Unido (2009), Serbia (2011), Israel (2010), Irán (2010), Turquía (2010), Islas Canarias (2012), Argelia (2008), Marruecos (2008), Egipto (2009), Libia (2009), Túnez (2009), Etiopía (2012), Nigeria (2012), Sudán (2012), Tanzania (2015), Uganda (2015), Kenia (2015), entre otros (Tonnang et al. 2015), convirtiéndose en una plaga clave para las regiones invadidas y una amenaza para el cultivo de tomate a nivel mundial (Desneux et al. 2011) (Fig. 2.9).



Figura 2.9. Distribución actual de *Tuta absoluta* (Fuente: Tonnang et al. 2015).

Es considerada una plaga oligófaga, que se alimenta y desarrolla mayormente sobre plantas hospederas de la familia Solanaceae. En la literatura se mencionan otras especies cultivadas hospederas de *T. absoluta*, como por ejemplo “la papa” *Solanum tuberosum* L., “la berenjena” *S. melongena* L. y “el tabaco” *Nicotiana tabacum* L. (Vargas, 1970; García & Espul, 1982; Pereyra & Sánchez, 2006). No obstante, su desempeño puede variar entre los distintos cultivos, por ejemplo los parámetros poblacionales de supervivencia y fecundidad son más elevados en tomate que en papa (Pereyra & Sánchez, 2006). También se registra su presencia en plantas silvestres, entre ellas, el “chamico” *Datura ferox* L., el “huevo de gallo”, *Salpichroa origanifolia* (Lam.) Baill., el “tutiá” *S. sisymbriifolium* Lam., el “tomatillo” *S. nigrum* L. y el “palán-palán” *Nicotiana glauca* L. (Galarza, 1984; Cordo et al. 2004; Desneux et al. 2010; USDA 2011).

En relación al ciclo de vida (Vargas, 1970; Urretabizkaya et al. 2010; Ortega, 2013) (Fig. 2.10), la hembra de *T. absoluta* deposita **huevos** de 0,4 mm de largo por 0,2 mm de diámetro, de color blanco crema-amarillo, generalmente en el envés de las hojas.

El estado larval presenta cuatro **estadios L1-L2-L3 y L4** (entre 1 y 8 mm de longitud). El primer estadio larval (L1), penetra activamente en las hojas y se alimenta del mesófilo de las mismas, dejando áreas traslúcidas entre las dos capas de epidermis denominadas *minas* o *galerías*. Como resultado de esta acción la planta altera su desarrollo y sufre un envejecimiento prematuro, mientras que la presencia de galerías favorece las infecciones fúngicas y bacterianas. Al completarse el desarrollo larval, el último estadio (L4) emerge de la mina y pasa por una primera fase de prepupa, en la que deja de alimentarse, antes de comenzar el proceso de pupación.

Las **pupas** se desarrollan en el suelo o el follaje. Son libres o exaradas, miden entre 5 y 6 mm, y presentan dimorfismo sexual basado en la ubicación de los poros genitales. Tienen forma cilíndrica y un color verdoso que se torna marrón oscuro a medida que se aproximan a la emergencia del adulto.

Los **adultos** presentan antenas filiformes, miden entre 6 y 7 mm de largo, con una expansión alar de 10 mm y una coloración generalmente pardo clara con manchas de color gris plateado sobre las alas anteriores. El abdomen es de color marrón cremoso, más grueso en las hembras que en los machos, y la cópula se inicia inmediatamente después de la emergencia.



Figura 2.10. Estados de desarrollo de la polilla del tomate *Tuta absoluta*, **a-** hembra adulta; **b-** huevo; **c-** larva (L3); **d-** pupa.

El tiempo de desarrollo generacional depende mayormente de las condiciones ambientales, siendo de 76,3 días a 14° C, 39,8 días a 19,7° C y 28,8 días a 21,1° C (Barrientos et al. 1998). La longevidad del adulto también está influenciada por las condiciones ambientales. A 24, 2 °C el promedio de vida para machos sin aparear es de 7,2 días, mientras que para hembras vírgenes es de 15,3 días, mostrando los machos y hembras apareados una longevidad significativamente menor (Vargas, 1970).

Una sola hembra puede poner hasta 260 huevos a lo largo de toda su vida (Fernández & Montagne, 1990) y estudios recientes afirman que en condiciones de laboratorio *T. absoluta* es capaz de reproducirse por partenogénesis deuterotónica (Caparros Megido & Haubruge, 2012).

La polilla se comporta como una especie multivoltina con un alto potencial reproductivo, pudiendo alcanzar hasta 12 generaciones al año. El adulto es de hábito nocturno, y durante el día permanece generalmente oculto (USDA, 2011).

2.2.3 Injuria a la planta y métodos de control

La injuria es provocada por la larva, de hábito minador, que ataca cualquier estadio de desarrollo del cultivo, alimentándose principalmente hojas, tallos y frutos, lo que le resta valor comercial al producto. Así, este microlepidóptero puede provocar pérdidas de hasta un 90% en el cultivo si no se adoptan medidas de control (Desneux et al. 2011) (Fig. 2.11).



Figura.2.11. a, b, c- Frutos en diferente estado de maduración con daño de la polilla (Fuente: Ortega, 2013); d- cultivo de tomate con daño de *T. absoluta*, e- detalle de la galería con larva de *T. absoluta* (L4) en hoja de tomate.

El umbral de daño económico (UE) reportado para esta plaga por distintos autores es altamente variable. Cely et al. (2010) y Wanumen Riaño (2012) lo consideran de 26 y 7 larvas de la polilla por planta de tomate, respectivamente, en cultivos de tomate de Colombia. Mientras que para la Argentina, Polack (2011) mediante la aplicación de un modelo fenológico, lo considera equivalente a 2 folíolos con daño fresco por planta del cultivo.

Hasta el momento, el manejo sanitario predominante de *T. absoluta* se basa en el uso de insecticidas, los cuales además de los diversos efectos adversos sobre el medio ambiente y la población humana mencionados previamente, presentan baja eficiencia de control de esta plaga, debido a la rápida generación de poblaciones resistentes (Siqueira et al. 2000, Lietti et al. 2005). En este sentido, el control biológico es uno de los métodos de protección vegetal que más interés ha despertado en todas las regiones en que la polilla es plaga (Consoli et al. 1998; Desneux et al. 2011; Luna et al. 2015).

Simultáneamente, en la Argentina se está avanzando en otros métodos de control, tales como el uso con feromonas y la técnica del macho estéril (Lobos, 2011; Cagnotti et al. 2012).

2.2.4 Enemigos naturales de *T. absoluta*

Se conoce que la polilla es atacada en todas las regiones donde se encuentra presente por una gran diversidad de insectos entomófagos (Desneux et al. 2010, Luna et al. 2015).

En Sudamérica, se han reportado varios enemigos naturales de *T. absoluta*. En Brasil, por ejemplo, se encontraron parasitoides pertenecientes a distintas especies de los géneros *Bracon* sp. (Hymenoptera: Braconidae), *Earinus* sp. (Hymenoptera: Braconidae y *Conura* sp. (Hymenoptera: Chalcididae) (Marchiori et al. 2004) y los depredadores *Geocoris punctipes* (Say) (Hemiptera: Lygaeidae), *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae), *Campyloneuropsis infumatus* (Carvalho), *Engytatus varians* (Distant), *Macrolophus basicornis* (Stal) (Hemiptera: Miridae) (Bueno et al. 2012; 2013) y

Podisus nigrispinus Dallas (Heteroptera: Pentatomidae) (Vivan et al. 2002). Y en Colombia se ha registrado el parasitoide *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae) (Cantor & Rodríguez, 2013).

En Europa el complejo de enemigos naturales reportado para esta plaga se encuentra integrado por depredadores hemípteros de la familia Miridae, como por ejemplo *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur), *Dicyphus errans* (Wolff) y *Dicyphus maroccanus* (Wagner) y de la familia Nabidae *Nabis pseudoferus* (Remane), y por parasitoides, que comprenden más de 25 especies de himenópteros, tales como los eulófidos *Necremnus artynes* (Walker), *N. metalarus* (Walker), *N. tidius* (Walker), *Stenomesus japonicus* (Ashmead) y *Neochrysocharys formosa* (Westwood), los braconídeos *Bracon nigricans* (Szépligeti), *Agathis fuscipennis* (Zetterstedt) y los tricogramátidos *Trichogramma urquijoi* (Cabello García) y *T. achaeae* (Nagaraja y Nagarkatte) (Desneux et al. 2010 y 2011; Mollá et al. 2011; Cabello et al. 2012; Nannini et al. 2012; Urbaneja et al. 2012; Zappala et al. 2012, Belda et al. 2013; Biondi et al. 2013; Chailleux et al. 2013; Ingegno et al. 2013; Abbas et al. 2014; Gabarra et al. 2014). Cabe destacar que *N. tenuis* y *M. pygmaeus*, son actualmente comercializadas como agentes de CB en varios países de Europa para manejar a *T. absoluta*.

Los depredadores de la polilla se alimentan fundamentalmente de huevos y larvas pequeñas (L1-L2), mientras que el complejo de parasitoides contiene especies que atacan los distintos estados de desarrollo de la plaga, a excepción del adulto (Vargas, 1970; Lange & Bronson, 1981; De Santis, 1983; García Roa, 1989; Uchoa-Fernandes & Campos, 1993; Consoli et al. 1998; Faria et al. 2000; Colomo et al. 2002; Luna et al. 2007; Gabarra & Arnó, 2010, Luna et al. 2010 y 2011).

Del complejo de enemigos naturales registrados para *T. absoluta* en Argentina, dos especies son depredadoras: la chinches *Tupiocoris cucurbitaceus* (Spinola) (Hemiptera: Miridae), que ataca principalmente huevos y larvas pequeñas, predando también moscas blancas de las especies *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) y *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) y *Zelus obscuridorsis* (Stal) (Hemiptera: Reduviidae) que caza larvas y adultos de la polilla (López et al. 2011 y 2012,

Speranza et al. 2014). No obstante, los parasitoides constituyen el grupo de enemigos naturales más numeroso conocido para esta plaga (Colomo et al. 2002, Berta & Pérez, 2011).

Así, se pueden identificar para la Argentina cinco gremios de parasitoides de *T. absoluta* según Mills (1994): 1) Parasitoides de huevos: *Trichogramma fasciatum* (Perkins), *T. pretiosum* (Ripley), *T. rojasi* (Nagaraja y Nagarkatti) y *Trichogrammatoidea bactrae* (Nagaraja); 2) Endoparasitoides larvales: *Agathis* sp, *Bracon lucileae* (Marsh), *Bracon* spp, *Earinus* sp, *Diadegma* sp, *Orgilus* sp, *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck), *Temelucha* sp, *Neochrysocharis formosa* (Westwood), 3) Ectoparasitoides larvales: *Cirrospilus* sp y *Dineulophus phthorimaeae* (De Santis), 4) Parasitoides huevo - prepupa: *Chelonus* sp y *Copidosoma* sp, y 5) Parasitoide de larva-pupa: *Campoplex haywardi* (Blanchard).

En particular en la provincia de Buenos Aires, el endoparasitoide larval *P. dignus* es el dominante (Botto et al. 1998). A continuación se presentan los aspectos bioecológicos más relevantes de esta especie, así como su potencialidad como agente de control biológico de *T. absoluta*, como antecedentes necesarios para el planteamiento de las hipótesis y objetivos de esta tesis.

2.3 El parasitoide *Pseudapanteles dignus*

2.3.1 Ubicación taxonómica

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hymenoptera

Superfamilia: Ichneumonoidea

Familia: Braconidae

Subfamilia: Microgastrinae

Género: *Pseudapanteles*

Especie: *Pseudapanteles dignus*

2.3.2 Biología y Ecología

El parasitoide *Pseudapanteles dignus* es un microhimenóptero perteneciente a la familia Braconidae, de origen americano y distribución Neártica- Neotropical (Colomo et al. 2002; Polack et al. 2002) (Fig.2.12). Su descripción original fue realizada por Muesebeck en el año 1938, quién lo ubicó dentro del género *Apanteles*. Mason (1981) lo transfirió posteriormente al género *Pseudapanteles* (Fernández-Triana et al. 2014).

Integra el gremio de los endoparasitoides larvales (Mills, 1994) (ver Capítulo 3), es un parasitoide koinobionte, de hábito solitario y estrecho rango de hospedadores. Se sabe que además de *T. absoluta* ataca al menos otras 4 especies de geléquidos y en otras especies vegetales, a saber, *Phthorimaea operculella* (Zeller), *Keiferia lycopersicella* (Walsingham), *Symmetrischema capsicum* (Povolny) y *Tildenia gudmannella* (Povolny) (Cardona & Oatman, 1971; Oatman & Platner, 1989; Bennett, 1995; Fernández-Triana et al. 2014).

La hembra del parasitoide deposita los huevos en el hemocoele de la larva hospedera (generalmente uno por larva, aunque puede autosuperparasitar) e inmediatamente después de la oviposición estos se vuelven traslúcidos y alargados en ambos extremos. Presenta tres estadios larvales, siendo el primero de ellos llamado “larva mandibulada” y el segundo y tercero “larva himenopteriforme” I y II respectivamente (Cardona & Oatman, 1971, Nieves, et al. 2015, Luna et al. 2016).



Figura.2.12. Distribución de *Pseudapanteles dignus* (Fuente: Fernández Triana et al. 2014. Zookeys).

Cuando el último estadio larval del parasitoide madura utiliza sus mandíbulas para salir de la larva del hospedador y tras la emergencia forma un cocón de color blanco perlado, densamente hilado, algo cilíndrico y redondeado en ambos extremos, dentro del cual ocurre el breve estadio de prepupa y el estado pupal. La hembra adulta mide aproximadamente unos 2,5 mm desde la punta de la cabeza hasta la punta del abdomen. El macho puede diferenciarse de la hembra por su menor tamaño, por el abdomen más oscuro y por la ausencia del ovipositor (Fig. 2. 13) (Cardona & Oatman, 1971). La hembra no posee período de preoviposición y generalmente ovipone el 50% de sus huevos antes de completar la primera semana de vida como adulto (Nieves, 2013).

Pseudapanteles dignus puede parasitar todos los estadios larvales de *T. absoluta*, y tiene la habilidad de ajustar su tiempo de desarrollo al del hospedador. Sin embargo, Nieves (2013) demostró que el estadio larval del hospedador puede afectar el tiempo de desarrollo y el número de cocones producidos por la hembra del parasitoide.



Figura.2.13. Estados de desarrollo del parasitoide *Pseudapanteles dignus* sobre *T. absoluta*, **a-** larva de *P. dignus* saliendo de la larva de *T. absoluta*; **b-** cocón del parasitoide; **c-** adulto de *P. dignus*.

De acuerdo a lo reportado por Nieves et al. (2015), la hembra tiene una longevidad de aproximadamente 26 días y una fecundidad promedio 192 huevos hembra. Sus tasas de incremento indican que, bajo condiciones óptimas de laboratorio, su población puede crecer a una tasa de 0,14 por día (rm: tasa intrínseca de incremento natural) y cada hembra se multiplica por 51 (R0: tasa de reemplazo) en 29 días (T: tiempo generacional).

En laboratorio, *P. dignus* exhibió una respuesta funcional de tipo I, es decir que la proporción de larvas de *T. absoluta* que una hembra parasita es independiente de la densidad de las mismas. La proporción de hospedadores atacados fue del 30% para las diferentes densidades del hospedador ensayadas, siendo 14 el número máximo de larvas

parasitadas en 24 h, a una densidad de 20 larvas ofrecidas. La tasa instantánea de ataque de la hembra del parasitoide fue de $0,22 \pm 0,03$ (Luna et al. 2007).

Por otra parte, Sánchez et al. (2009) y Nieves et al. (2015) analizaron los patrones de parasitismo a distintas escalas espaciales dentro del cultivo, y la magnitud del parasitismo a campo. Este braconido exhibió una respuesta de agregación a la densidad del hospedador a escala de hoja, característica que varios autores consideran relacionada a la capacidad de un parasitoide para contribuir a la estabilidad y persistencia de la interacción con su hospedador (Hassell, 1982; Chesson & Murdoch 1986; Walde & Murdoch, 1988; Hassell, 2000). El impacto del parasitismo natural sobre la población de la plaga varió entre el 39% y el 63%.

Asimismo, se realizaron estudios acerca de su interacción con el ectoparasitoide larval *D. phthorimaeae* de Santis (Hymenoptera: Eulophidae), ambos presentes de forma espontánea y coexistiendo en los cultivos de tomate de la región (Luna et al. 2010; Savino et al. 2016). Observándose que en las condiciones ensayadas ambas especies manifestaron cambios comportamentales y que sólo las hembras de *P. dignus* lograron efectuar el parasitismo sobre *T. absoluta* en presencia de una hembra heteroespecífica, sin reducir las tasas de parasitismo alcanzadas en ausencia de la misma.

2.3.3 Su uso como agente de CB

Los antecedentes previamente descritos dan cuenta de varios atributos biológicos y ecológicos de *P. dignus* que se consideran positivos para un agente de control biológico (van Lenteren, 2012a). Entre las características ventajosas que presenta este parasitoide pueden mencionarse: su presencia espontánea en cultivos de tomate bajo invernáculo y a cielo abierto, tanto en producciones orgánicas como en convencionales con fuertes aplicaciones de plaguicidas, la elevada coincidencia espacio-temporal con *T. absoluta*, el estrecho rango de hospedadores, la sincronización del tiempo de desarrollo de su larva con la de su hospedador, una mayor tasa de ataque (a') que la tasa de crecimiento (r_m) de *T. absoluta*, la ausencia de un período de pre-

oviposición de la hembra, la habilidad para compartir recursos y coexistir en los cultivos con otros parasitoides, como *D. phthorimaeae*, y los elevados valores de parasitismo en condiciones naturales. Además, es una especie relativamente fácil de criar bajo condiciones controladas.

En el presente trabajo de Tesis se pretende completar el conocimiento de la dinámica espacio-temporal de *P. dignus* y su evaluación como agente de control de *T. absoluta*, por medio de liberaciones aumentativas en cultivos de tomate bajo cubierta. El entendimiento de cómo utiliza este parasitoide los recursos en los períodos en que el tomate no se produce, permitirá conocer la posible existencia de otras especies vegetales y/o de insectos hospedadores que puedan servirle de alimento y refugio, a nivel de predio o quinta, contribuyendo a la persistencia de sus poblaciones, y permitiéndole colonizar el cultivo desde esos ambientes en cada nuevo ciclo. Se presume que la presencia natural de *P. dignus* y su interacción con distintos componentes del agroecosistema refuercen las liberaciones aumentativas dentro de los invernáculos. En sumo, uno de los fines de este trabajo es potenciar la capacidad natural de este parasitoide para el control de *T. absoluta*.

2.4. Materiales y Métodos Generales

2.4.1 Cría de Insectos

Todos los individuos utilizados en los ensayos de esta tesis procedieron de colonias establecidas en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE-CCT La Plata, CONICET- UNLP), bajo condiciones ambientales controladas de temperatura, humedad y fotoperiodo ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60-70\pm 10\%$ HR, 14:10 L: O).

2.4.2 Cría del hospedador: *Tuta absoluta*

La colonia de *T. absoluta* se inició a partir de material traído del campo. Para ello, se colectaron folíolos de tomate con larvas de la polilla en distintos predios del CHP con manejo orgánico, es decir, sin la aplicación de insecticidas químicos.

Una vez en el laboratorio, los folíolos con daño de *T. absoluta* eran colocados dentro de bandejas plásticas o “unidades de cría” (500 ml), encerradas en bolsas tipo Ziploc®, tal como se muestra en la figura 2.14 y mantenidas en un bioterio aclimatado. Las unidades eran provistas en su interior de papel filtro y hojas frescas de tomate para la alimentación *ad libitum* de las larvas. El material vegetal utilizado como alimento provenía de cultivos orgánicos del CHP o del invernáculo experimental del CEPAVE, en el cual se cultivaban las plantas de tomate (Fig.2.15).

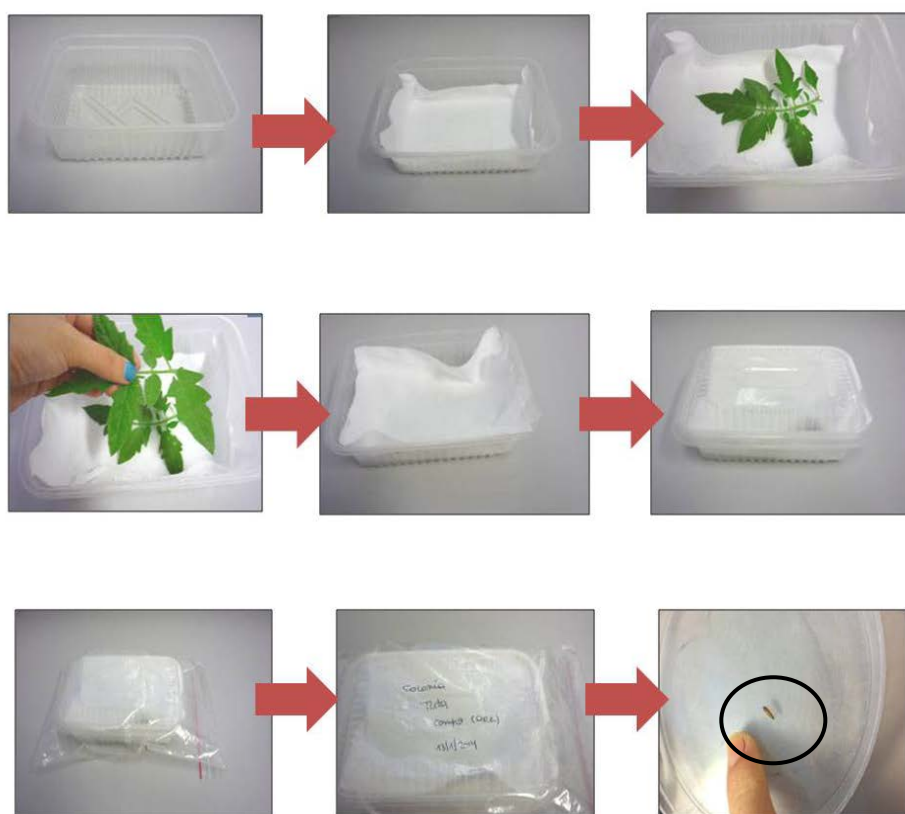


Figura. 2.14 Cría de *T. absoluta*. Acondicionamiento del material traído de campo en bandejas plásticas con suministro de alimento fresco. Detalle de una pupa de *T. absoluta* indicada con un círculo.



Figura. 2.15. Invernáculo experimental del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE- CCT La Plata-CONICET-UNLP). Buenos Aires. Argentina.

Una vez obtenidas las pupas, éstas eran retiradas manualmente de las bandejas y colocadas en pastilleros de acrílico (10 cm diámetro) abiertos dentro de la jaula de oviposición (Fig. 2. 16) hasta la emergencia de los adultos de la polilla.

Jaula de Oviposición (0,5 ancho x 0, 5 largo x 0,5 m alto): consistía en un bastidor de madera revestido con *voile*, en cuyo interior se encontraban los adultos de *T. absoluta* de ambos sexos, plantines de tomate como sustrato de oviposición y trozos de algodón embebidos en miel para la alimentación de las polillas. Dicha jaula estaba ubicada dentro de un bioterio con condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo. Cada 72 h los plantines con presencia de huevos y/o L1 de *T. absoluta* eran recambiados por nuevos, provenientes del invernáculo experimental del CEPAVE (Fig. 2.15). También se realizaba el recambio de algodones con miel y la liberación dentro de la jaula de nuevos adultos obtenidos a partir de material del campo así como de pupas de la colonia (Fig. 2.16). Esto previno la declinación de la colonia, producto de la endocría, un fenómeno comúnmente reportado en insectos (Lanteri et al. 2002).

Jaula de Cría (0,45 ancho x 0,45 largo x 0,55 m alto): Los plantines con huevos eclosionados de *T. absoluta* eran removidos de la jaula de oviposición a la jaula de cría cada 72 h. Diariamente esta jaula era provista de folíolos frescos de tomate para la alimentación de los estadíos inmaduros, (L1, L2, L3) (Fig. 2.17).

Jaula de Pupación (0,35 ancho x 0,5 largo x 0,55 m alto): Cuando las larvas de *T. absoluta* se hallaban en el último estadio (L4), los plantines eran transferidos de la jaula de cría a la jaula de pupación. Ésta consistía en una estructura de madera, revestida con *voile* y provista de un piso de rejilla metálica (con una luz de aproximadamente 3 cm), que permitía que las pupas caigan desde la jaula a una bandeja de arena seca, previamente desinfectada en autoclave, ubicada por debajo de la misma. Cada 72 h la arena era tamizada para la recuperación de las pupas de la polilla, las cuales eran colocadas dentro de la jaula de oviposición para reiniciar el ciclo (Fig. 2.17).



Figura. 2.16. Cría de *Tuta absoluta* en bioterio experimental bajo condiciones controladas: **Jaula de oviposición.**



Figura. 2.17. Cría de *Tuta absoluta* en bioterio experimental bajo condiciones controladas: derecha **Jaulas de cría** de los primeros estadios larvales (L1-L3) e izquierda **Jaula de pupación** (último estadio larval: L4 + pupas de la polilla).

2.4.3 Cría del parasitoide: *Pseudapanteles dignus*

Esta cría se inició también con individuos capturados en cultivos de tomate orgánico del CHP. El procedimiento consistió en la colecta a campo de cocones de *P. dignus* y de larvas de *T. absoluta* presuntamente parasitadas por el microhimenóptero. Los folíolos con larvas fueron trasladados al laboratorio y acondicionados en bandejas plásticas (500 ml), encerradas en bolsas tipo Ziploc® hasta la obtención de pupas del parasitoide siguiendo el mismo procedimiento explicado anteriormente (Fig. 2. 18).

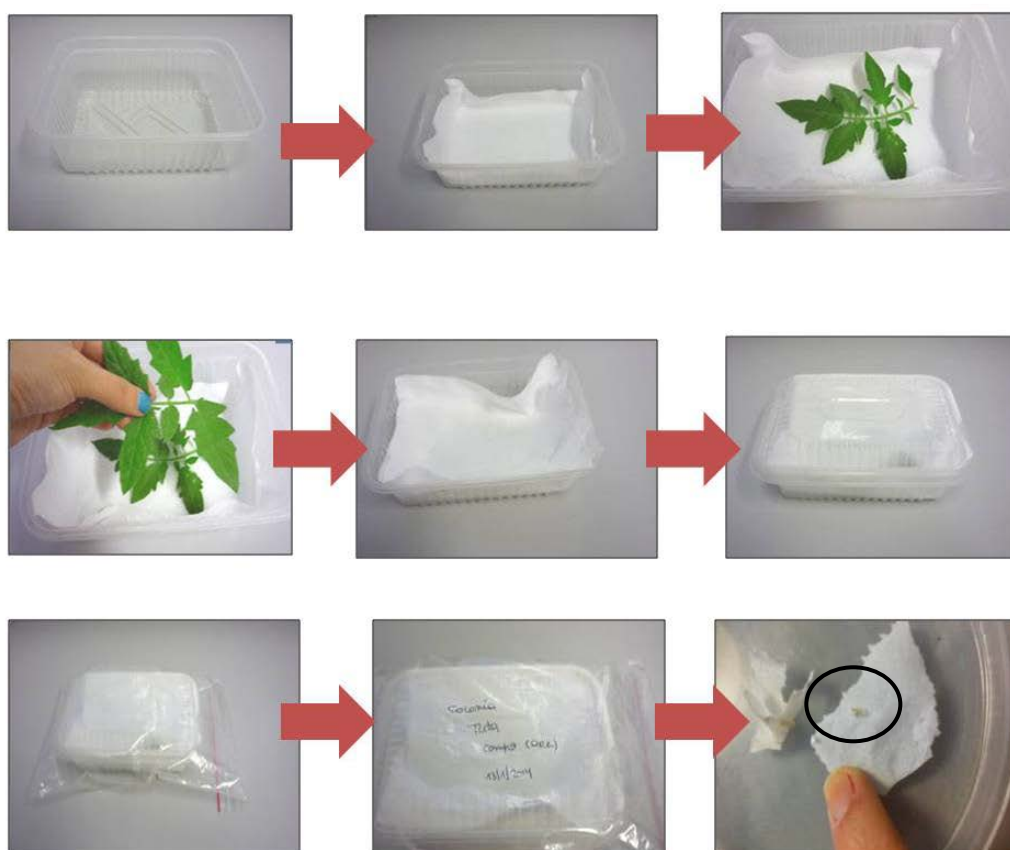


Figura. 2. 18. Acondicionamiento del material para la cría de *P. dignus*. Detalle de cocón de *P. dignus*, indicado con círculo.

Cada 48 h se realizaba una inspección bajo lupa binocular (SMZ 1270, Nikon Corporation, Japón) para controlar la supervivencia de las larvas de *T. absoluta*, la presencia de cocones de *P. dignus* y descartar larvas y/o pupas del ectoparasitoide larval *D. phthorimaeae*, a fin de evitar la contaminación de la colonia.

Una vez formados los cocones de *P. dignus*, éstos eran removidos cuidadosamente de las unidades de cría, con la ayuda de una pinza metálica, y colocados individualmente en pastilleros de acrílico (10 cm diámetro) cerrados, con suministro de miel *ad libitum* hasta la emergencia de los adultos (Fig. 2. 20).

Finalmente, los adultos de *P. dignus* provenientes del campo, eran sexados y puestos en cámaras de cópula por 48 h (Fig. 2.21).

Unidades de parasitismo:

La unidad de cría y experimental para la oviposición de *P. dignus* consistió en un vaso de acrílico (100 ml) (Fig. 2.19), en cuyo interior se colocaba individualmente una avispa hembra, previamente copulada, la cual se aprovisionaba con una traza de miel en la parte superior para su alimentación y con un recipiente (25ml) con agua, a modo de “florero”, en el cual se le ofrecían folíolos de tomate con un número determinado de larvas del hospedador. La unidad se cerraba con un rectángulo de *voile* fijado por una goma elástica, con el fin de evitar la fuga de los parasitoides y permitir la aireación de la unidad



Figura. 2. 19. Unidades de parasitismo de *P.dignus* en el laboratorio.

Luego de 48 h de exposición, la hembra adulta era retirada de la unidad con un aspirador bucal y las hojas de tomate con larvas presuntamente parasitadas eran acondicionadas en bandejas plásticas de 500 ml hasta la obtención de pupas del hospedador y/o parasitoide, siguiendo el mismo procedimiento explicado para el material proveniente del campo (Fig. 2. 18).

Cada 48 h las bandejas de cría eran revisadas para controlar la supervivencia de las larvas, la calidad del alimento y la presencia de cocones de *P. dignus*. Mediante el uso de una pinza metálica, los cocones eran removidos de las hojas y colocados

individualmente en pastilleros de acrílico (10 cm diam) con papel de filtro humedecido, y una traza de miel para alimentación de las avispas adultas tras su emergencia (Fig. 2.20).

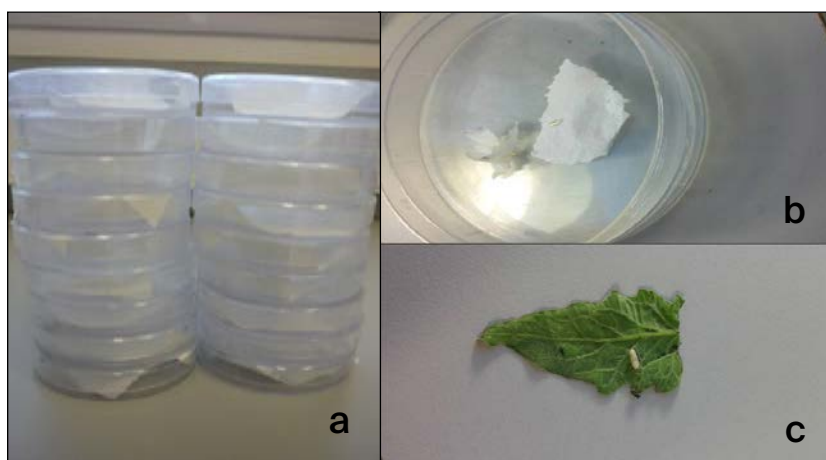


Figura. 2. 20. Colonia de *P. dignus*, **a-** pila de pastilleros conteniendo cocones de *P.dignus*, **b-** detalle de cocón adherido al papel tissue; **c-**detalle de un cocón adherido a un folíolo de tomate.

Una vez sexados los adultos emergidos (Fig. 2.21 a), machos y hembras eran colocados en cámaras de cópula para reiniciar luego el ciclo de parasitismo. Las cámaras de cópula consistían en recipientes de plástico con tapa de 10,5 cm de altura y 8,5 cm de diámetro (600 ml) (Fig. 2. 21b).

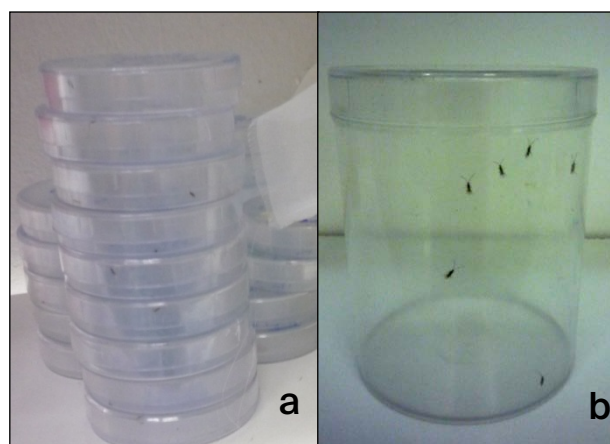


Figura. 2. 21. Individuos adultos de *P.dignus* obtenidos a partir de la cría experimental, **a-** pastilleros con adultos clasificados por sexo; **b-**cámara de cópula.

En los siguientes capítulos se detalla la metodología particular para cada experimento realizado.

Capítulo 3

Interacción *T. absoluta* – *P. dignus* en Solanáceas cultivadas y no cultivadas del Cinturón Hortícola Platense. Trama trófica cuantitativa de *T. absoluta*. Control Biológico por Conservación.

3.1 Introducción

Dentro de un agroecosistema existen numerosas interacciones ecológicas, tales como las que se establecen entre plantas, insectos herbívoros y sus enemigos naturales. Dichas interacciones tienen lugar al nivel ecológico de población y de comunidad, y vinculan grupos funcionales de especies en un mismo cultivo, así como a través de distintos cultivos y otros hábitats semi-naturales del paisaje agrícola (Bohan et al. 2013).

En el campo del manejo de plagas predomina el enfoque convencional que prioriza el estudio de las asociaciones simples entre unas pocas especies, las cuales tienen en cuenta, en general, a un solo cultivo y su plaga principal y, en escasas ocasiones, a unos pocos enemigos naturales. No obstante, recientemente se ha comenzado a reconocer la importancia que tiene conocer las interacciones que ocurren a nivel de la comunidad ecológica que integran distintas especies vegetales, de herbívoros e insectos entomófagos, ya que puede brindar información de utilidad para el manejo de herbívoros plaga (Valladares & Salvo, 1999). Los efectos desde el nivel trófico superior (depredadores y parasitoides) al de la plaga (también denominados “top-down”), combinados con los que ocurren desde el nivel trófico inferior, constituido por algunas plantas que pueden proporcionar refugio y alimento para el herbívoro (llamados “bottom-up”), pueden promover la persistencia de las interacciones plaga-enemigo natural, proporcionando un valioso servicio ecosistémico (Tilman et al. 2002).

En este sentido, el estudio de las tramas tróficas aporta información acerca de la riqueza de especies en los distintos niveles tróficos y del número y magnitud relativa de las interacciones que se establecen entre las especies que componen cada nivel (Polis & Winemiller, 1996; Rott & Godfray, 2000). Además, el conocimiento de la distribución de los recursos y el resultado de la competencia dentro de la red permite estimar la manera en que los diferentes factores y procesos afectan a los servicios proporcionados por el agroecosistema (Briand & Cohen, 1987; Pimm et al. 1991).

En particular, las tramas tróficas de parasitoides se basan en el estudio de las interacciones entre plantas, insectos herbívoros, sus parasitoides, y sus hiperparasitoides (Rott & Godfray, 2000). De este modo, revelan diferentes aspectos de la comunidad en estudio, tales como los procesos implicados en la organización de la misma, la riqueza específica de parasitoides y sus rangos de hospedadores (Valladares & Salvo, 1999; Lewinsohn et al. 2006; Cagnolo et al. 2011). Específicamente, las de tipo **cuantitativo** expresan las abundancias relativas de los hospedadores y de los parasitoides en las mismas unidades, así como la dimensión de las relaciones tróficas que se establecen entre ellos (Hawkins & Sheehan, 1994; Root & Godfray, 2000). Cabe destacar que los parasitoides tienen un papel preponderante en la dinámica poblacional de los insectos fitófagos (La Salle & Gauld, 1993), y se han convertido en un foco para la investigación de patrones y procesos en las comunidades ecológicas (Hawkins & Sheehan, 1994).

Como ya se mencionó, el Control Biológico por Conservación (CBC) representa un enfoque holístico para el manejo de plagas. El mismo consiste en manipular el ambiente con el fin de proteger y aumentar la abundancia de las poblaciones de enemigos naturales potencialmente beneficiosos (Barbosa, 1998). La implementación de esta técnica requiere de conocimientos ecológicos, teóricos y aplicados, a nivel de población y de comunidad. Para ello, es necesario determinar los componentes clave y sus interrelaciones dentro del agroecosistema de modo de incrementar la abundancia y diversidad de enemigos naturales (Landis et al. 2000; Messelink et al. 2014).

El CBC presta especial atención al manejo de la diversidad vegetal contemplando el establecimiento de policultivos, cultivos intercalados, la rotación de cultivos, la

conservación y manejo de la vegetación silvestre, entre otras (Mena-Covarrubias, 2009). Existen numerosas evidencias de los efectos positivos que posee la diversidad vegetal sobre los enemigos naturales. En particular, las plantas de presencia espontánea presentes en los predios de cultivo o en sus alrededores, pueden proporcionar recursos necesarios para la supervivencia de los mismos, tales como fuentes alternativas de alimento, sitios de oviposición y de refugio (Andow, 1991; Powell, 1986). Por otra parte, los enemigos naturales que habitan en la vegetación silvestre pueden moverse hacia los cultivos proporcionando una mortalidad natural que contribuye a reforzar la aplicación del control biológico a través de liberaciones aumentativas (Messelink et al. 2014).

En el cultivo de tomate, una de las principales plagas es la “polilla del tomate” *T. absoluta* (Capítulo 2). Debido al daño que ocasiona este insecto fitófago, su control consiste en el uso de grandes cantidades de plaguicidas altamente tóxicos (Informe Defensor del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires, 2015). Por este motivo, la preocupación generada en la sociedad ha desencadenado el inicio de investigaciones sobre técnicas alternativas de control, entre ellas el control biológico (Capítulo 1).

Hasta el momento, se conocen más de 50 especies de insectos entomófagos asociados a *T. absoluta* a nivel mundial, siendo aproximadamente la mitad de ellos parasitoides. Los mismos conforman cinco gremios según Mills (1994), entendiéndose como gremio a un conjunto de especies que utiliza de manera similar el recurso disponible, en este caso, al hospedador.

Los gremios de parasitoides de *T. absoluta* son: parasitoides de huevos, endoparasitoides larvales, ectoparasitoides larvales, parasitoides de huevo-larva y de la larva-pupa (Vargas, 1970; De Santis, 1983; García Roa, 1989; Uchoa-Fernandes & Campos, 1993; Consoli et al. 1998; Colomo et al. 2002; Parra & Zucchi, 2004; Luna et al. 2010 - 2011; Desneux et al. 2010; Zapalà et al. 2013; Gabarra et al. 2014; Luna et al. 2015). Entre los depredadores se han identificado más de 30 especies que depredan todos los estadios de desarrollo de la plaga, a saber, arañas, hemípteros míridos, nábidos y pentatómidos, dermápteros, himenópteros véspidos y formícidos, tisanópteros y ácaros fitoseidos (Torres et al. 2002; Arnó et al. 2009; Mollá et al. 2010).

En su región de origen, *T. absoluta* es atacada por varias especies de parasitoides nativos cuando se encuentra asociada al cultivo de tomate (Vargas, 1970; Colomo et al. 2002; Luna et al. 2015). Entre los parasitoides larvales, el braconídeo *P. dignus*, endoparasoide de geléquidos, ha sido uno de los más estudiados. Numerosos atributos biológicos y ecológicos, previamente investigados en el campo y el laboratorio, confieren a este parasitoide potencialidad para el control de la plaga (Luna et al. 2007; Sánchez et al. 2009; Nieves et al. 2015).

En toda su área de distribución actual se conoce que la polilla también se alimenta de otras solanáceas cultivadas y silvestres (Pereyra & Sánchez, 2006; Cordo et al. 2004; Desneux et al. 2010; Zappalà et al. 2013; Bawin et al. 2015). Sin embargo, los estudios sobre el complejo de parasitoides asociado a *T. absoluta* cuando ataca a otras especies de solanáceas diferentes al tomate son limitados, y en particular para la Argentina, la información existente sobre el rango de hospedadores de *P. dignus* es inexistente. De esta manera, el conocimiento de la trama trófica de *T. absoluta* en los predios hortícolas donde se cultiva tomate, constituida por la vegetación, los geléquidos (principales hospedadores de *P. dignus*) y los parasitoides larvales, podría ser de importancia para mejorar el manejo de la plaga.

El objetivo de este estudio fue representar una trama trófica cuantitativa de parasitoides para *T. absoluta*, a fin de conocer las relaciones inter-específicas establecidas por esta plaga, sus parasitoides, y las solanáceas cultivadas y silvestres presentes en los predios, sentando las bases para el CBC de *T. absoluta*.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Área de estudio, toma de muestras y cría de insectos

Para llevar a cabo esta investigación se escogieron siete quintas representativas del Cinturón Hortícola Platense (CHP), provincia de Buenos Aires, Argentina (ver Capítulo

2), ubicadas en las localidades de Colonia Urquiza ($34^{\circ}56'35''\text{S}$, $58^{\circ}05'30''\text{W}$), Los Hornos ($34^{\circ}58'55''\text{S}$ $57^{\circ}59'02''\text{O}$), Joaquín Gorina ($34^{\circ}54'29''\text{S}$ $58^{\circ}02'25''\text{O}$) y Lisandro Olmos ($35^{\circ}00'20,48''\text{S}$, $58^{\circ}01'59,89''\text{W}$) (Figs. 2.7 y 3.1). El CHP representa el área hortícola de mayor envergadura del país (Maldonado, 2014). Los cultivos se realizan a cielo abierto o bajo invernáculo, con una superficie promedio utilizada para cada cultivo de 5,5 ha a cielo abierto y de 2,4 ha bajo cubierta (Hang et al. 2010; Stupino et al. 2012). Típicamente los establecimientos hortícolas en esta región son muy diversificados (Fig. 3.1), y sus dimensiones alcanzan valores de entre 10 y más de 20 hectáreas según el tipo de manejo, el cuál puede clasificarse como convencional, orgánico o convencional de bajos insumos (Stupino et al. 2012). La producción se realiza de manera continua a lo largo del año, siendo el cultivo de lechuga el que ocupa mayor superficie plantada, seguido por el tomate, alcaucil, acelga y espinaca (Rouaux, 2015).





Figura 3.1. Imagen satelital de las distintas localidades del CHP, **a-** Colonia Urquiza; **b-** Los Hornos; **c-** Joaquín Gorina; **d-** Lisandro Olmos.

Para este estudio se aplicó el Método Centrífugo de Malezas (Wapshere, 1974), que se basa en la selección de plantas con una estrecha relación filogenética respecto a la planta hospedera preferida por el insecto fitófago, bajo el supuesto de que las mismas presentarán patrones morfológicos y bioquímicos similares, que resultarán propicios para los herbívoros oligófagos. Así, se realizó una búsqueda de especies de solanáceas reportadas para la región en catálogos botánicos (Marzocca, 1976; Zuloaga & Morrone, 1999; y las bases de datos electrónicas Flora de Argentina: www.flora-argentina.edu.ar,

Trópicos: www.tropicos.org, entre otros). A continuación, a partir del listado obtenido, se comenzó a realizar la prospección de las mismas en los predios hortícolas seleccionados.

Se realizaron muestreos, con una frecuencia aproximada de un mes, durante dos años consecutivos (enero de 2013 - enero de 2015). En cada quinta se procedió a la inspección directa de las distintas especies de solanáceas registradas *in situ*, observando hojas, tallos y frutos, a fin de observar la presencia de geléquidos minadores (Fig. 3.2). Las partes vegetales en las que fueron halladas minas se colectaron y trasladaron para su posterior cría en el laboratorio.

Dado que el ataque foliar fue el predominante, se decidió tomar a esta parte vegetal como unidad muestral, y se recogieron 200 hojas con daño por especie vegetal y por fecha de muestreo. Adicionalmente, algunos ejemplares de las solanáceas muestreadas se llevaron al laboratorio para la preparación de un herbario de referencia. La identificación de las especies vegetales se realizó utilizando la bibliografía ya mencionada y se corroboró por especialistas.



Figura 3.2. Muestreo de larvas de geléquidos minadoras de plantas solanáceas en predios del Cinturón Hortícola Platense.

Las hojas con daño fueron revisadas en el laboratorio bajo un microscopio estereoscópico (SMZ645, Nikon Corporation, Japón) para verificar la presencia de larvas minadoras y de ectoparasitoides larvales, abriendo cuidadosamente las minas con la ayuda de agujas entomológicas. Posteriormente, las larvas de geléquidos vivas y las ectoparasitadas se acondicionaron en cajas plásticas (10 cm de diámetro x 2 cm alto), denominadas “unidades de cría”, con papel de filtro humedecido. Las larvas de lepidópteros vivas fueron alimentadas con el correspondiente material vegetal en el que fueron halladas en el campo hasta su pupación o la obtención de parasitoides (Fig. 3.3).

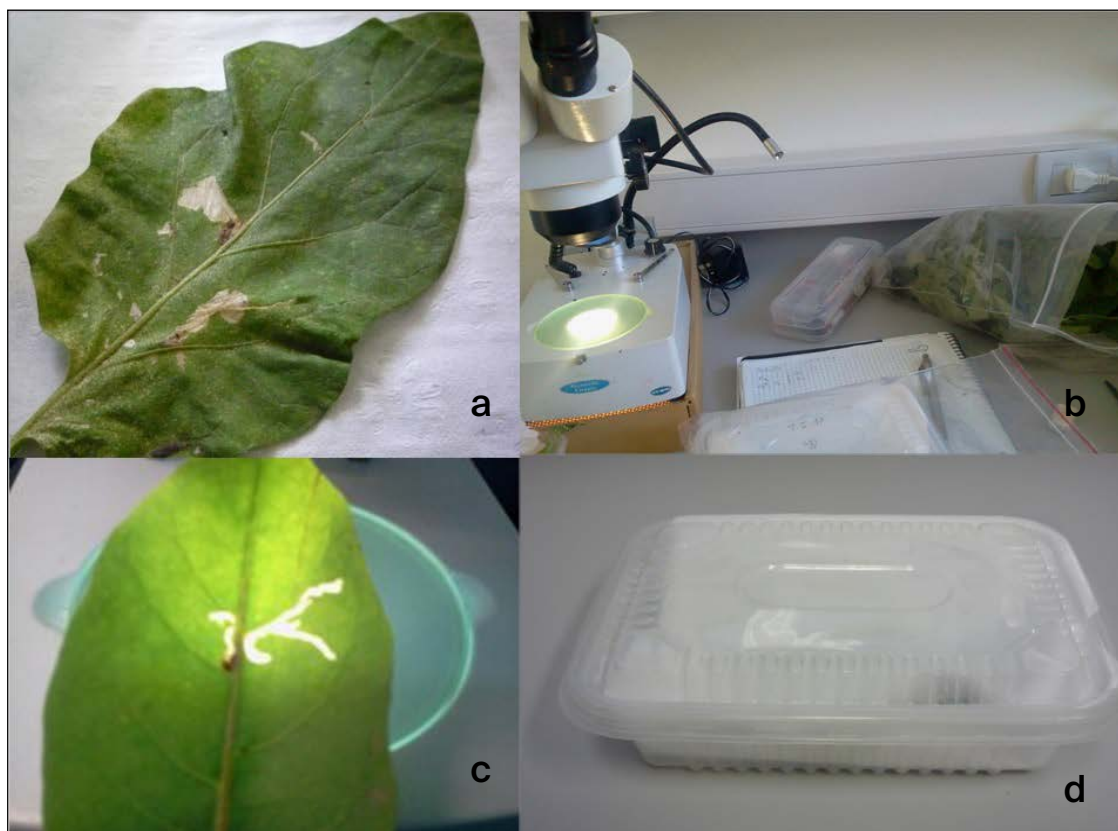


Figura 3.3. Revisión en el laboratorio del material colectado en el campo y acondicionamiento de las larvas obtenidas, **a-** hoja de berenjena con presencia de minas, **b-** inspección de muestras mediante la utilización de lupa binocular **c-** hoja de palán-palán con galería **d-** unidad de cría.

Las unidades de cría se colocaron dentro de bolsas herméticas tipo Ziploc® para prevenir el escape de larvas y mantener las condiciones de cría. Se etiquetaron con la fecha, sitio de muestreo y especie de planta hospedadora, y se colocaron en un bioterio aclimatado ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$, 70 % HR, 14:10 L: O) (Fig. 3.4).



Figura 3.4. Bioterio aclimatado del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$, 70 % HR, 14:10 L: O).

Diariamente, se observó el desarrollo de las larvas de geléquidos y de ectoparasitoides hasta la formación de pupas. Durante el desarrollo de las primeras se registró la aparición de larvas y pupas de endoparasitoides. Luego, todas las pupas obtenidas (geléquidos, ecto y endoparasitoides) se conservaron en frascos etiquetados hasta la emergencia de los adultos para su posterior identificación. Las larvas hospedadoras que murieron durante la cría fueron disectadas bajo el microscopio estereoscópico en busca de parasitoides inmaduros.

Finalmente, se realizó un registro fotográfico, que incluyó a las distintas especies de plantas, geléquidos minadores y parasitoides asociados.

3.2.2 Identificación de las especies de insectos

La determinación taxonómica de los geléquidos fue realizada por la Dra. Sangmi Lee, especialista de la Arizona State University, a partir de la disección de los adultos y aplicación de caracteres superficiales (por ejemplo: patrón del ala, palpos labiales) y caracteres genitales masculinos (Lee et al. 2009). Los especímenes fueron depositados en la Hasbrouck Insect Collection, Arizona State University (Estados Unidos de América) y en la División de Entomología, Museo de La Plata, Argentina.

Para la identificación sistemática de los parasitoides se contó con la ayuda de la Dra. Adriana Salvo (Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba/Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal-IMBIV). Para ello se utilizaron diversas claves taxonómicas y otras publicaciones referidas a la taxonomía y biología de parasitoides de *T. absoluta* (Wharton et al. 1997; Colomo et al. 2002; Fernández & Sharkey, 2006; Luna et al. 2010; Goulet & Huber, 1993; Salvo, 2008; Whitfield et al. 2009), comparando con el material de referencia. La determinación se realizó hasta el máximo nivel de resolución taxonómica posible. Con esta información se elaboró una diagnosis de las distintas especies registradas. Este material fue depositado en la División de Entomología, Museo de La Plata, Argentina.

3.2.3 Análisis de los datos

En primer lugar, se midió el índice de riqueza específica S , que se define como el número total de entidades diferentes presentes en una comunidad ecológica (Morin, 2005). En este estudio se estimó como el número total de especies y morfoespecies registradas en el ensamble, tanto de geléquidos como de parasitoides. Para ello, se tuvieron en cuenta los datos obtenidos, en todo el estudio, por especie de solanácea, con el fin de evidenciar posibles patrones temporales de riqueza de las especies hospederas y los parasitoides.

Por otra parte, se determinaron los gremios de los parasitoides larvales obtenidos (Mills, 1994). Esto se realizó analizando la información de la identificación taxonómica de

las especies o morfoespecies de los parasitoides y de observaciones realizadas durante la cría del hospedador hasta su muerte, conjuntamente con bibliografía existente sobre la biología, ecología y comportamiento de los parasitoides hallados.

A fin de representar las interacciones tróficas halladas en el campo, se construyó una trama trófica cuantitativa, utilizando el paquete estadístico bipartito R (R Development Core Team 2014). Debido a que sólo se encontraron parasitoides asociados a *T. absoluta*, la red trófica cuantitativa se realizó únicamente para esta especie. En dicha red, el ancho de las barras en el nivel trófico inferior indica la abundancia relativa de *T. absoluta* en cada planta hospedera, y en el siguiente nivel trófico el parasitismo relativo de cada especie de parasitoide. Por otra parte, el número de triángulos que unen a las especies de los dos niveles tróficos indica la riqueza de las interacciones (número de parasitoides por cada planta hospedera) mientras que el ancho de los triángulos muestra la magnitud de dichas interacciones.

Para el análisis de la estacionalidad de *T. absoluta* y *P. dignus* se construyeron perfiles fenológicos con los datos de la presencia de ambas especies en solanáceas hospedadoras.



Finalmente, la densidad de larvas por hoja de *T. absoluta* (media \pm ES) y el porcentaje de parasitismo de *P. dignus* en cada planta hospedera, fue estimado para cada fecha de muestreo.




3.3 Resultados




Durante el período de estudio, se realizaron 24 muestreos mensuales, a lo largo de dos años, y para la totalidad de los sitios muestreados se identificaron, 12 especies de solanáceas, dos de ellas cultivadas: “berenjena” *Solanum melongena* L. y “pimiento dulce” *Capsicum annuum* L., y las restantes de presencia espontánea: “chamico” *Datura ferox* L., “flor de sapo” *Nicotiana longiflora* Cav., “palán-palán” *Nicotiana glauca* Graham, “huevo de gallo” *Salpichroa origanifolia* (Lam.) Baill., “tomatillo” *Solanum americanum* Mill., “tutiá” *Solanum sisymbriifolium* Lam., “floripondio” *Brugmansia arborea* L., “hierba




mora" *Solanum chenopodioides* Lam., "hierba mora peluda" *Solanum sarrachoides* Sendtner, y *Solanum pygmaeum* Cav.. En la Tabla 3.1. se presenta una caracterización breve de cada especie.


Tabla 3.1. Listado de las especies de solanáceas registradas durante el período de estudio (2013-2015) en el CHP (Fuente: www.flora.argentina.edu.ar).

 <p><i>Solanum melongena</i> (berenjena)</p>	<p>Distribución</p> <p>China, India, Japón, España, Italia, Grecia, América</p>	<p>Hábito</p> <p>Cultivo Anual</p>	<p>Elevación (m)</p> <p>Altura: 0,03 – 2</p>	<p>Status</p> <p>Introducida</p>
 <p><i>Capsicum annuum</i> (pimiento)</p>	<p>China, India, Corea, Japón, Filipinas, Asia Central, Europa Meso y Sudamérica</p>	<p>Cultivo anual de porte arbusti vo</p>	<p>Altura: 0,08 – 1</p>	<p>Nativa</p>

 <p><i>Datura ferox</i> (chamico)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Corrientes, Jujuy, Formosa, Catamarca, Córdoba, Entre Ríos, La Pampa, La Rioja, Salta</p>	<p>Hierba Anual</p>	<p>Altura: 0 - 3500</p>	<p>Nativa</p>
 <p><i>Nicotiana longiflora</i> (flor de sapo)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Corrientes, Jujuy, Catamarca, Misiones, La Rioja, Córdoba, S. del Estero, Entre Ríos</p>	<p>Hierba Perenn e</p>	<p>Altura: 0,10-1,30</p>	<p>Nativa</p>
 <p><i>Nicotiana glauca</i> (palán-palán)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Catamarca, La Rioja, Chaco, Tucumán, Córdoba, Mendoza <u>Bolivia</u> <u>Uruguay</u> <u>Chile</u> <u>Sudáfrica</u></p>	<p>Arbust o o Sub- arbust o Perenn e</p>	<p>Altura: 0,20 - 6</p>	<p>Nativa</p>

 <p><i>Salpichroa origanifolia</i> (huevo de gallo)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Córdoba, Santa Fé, San Luis, Salta, Jujuy, Entre Ríos, La Pampa, Tucumán, La Rioja <u>Uruguay</u> <u>Bolivia</u></p>	<p>Hierba o subar- busto Perenn e</p>	<p>Altura: 0,15 – 0,60</p>	<p>Nativa</p>
 <p><i>Solanum americanum</i> (tomatillo)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Corrientes, Misiones, Chaco, Tucumán <u>Brasil</u> <u>Chile</u></p>	<p>Hierba o sub- arbus- to Perenn e</p>	<p>Altura: 0,20 – 0,60</p>	<p>Nativa</p>
 <p><i>Solanum sisymbriifolium</i> (Tutiá)</p>	<p><u>Argentina:</u> Buenos Aires, Jujuy, Chaco, Salta, Misiones, Córdoba, S. del Estero, Santa Fé <u>Colombia</u> <u>Bolivia</u></p>	<p>Hierba o subar- busto Perenn e</p>	<p>Altura: 0,50 – 1,10</p>	<p>Nativa</p>

 <p><i>Brugmansia arborea</i> (floripondio)</p>	<p><u>Argentina</u> <u>Colombia</u> <u>Ecuador</u> <u>Perú</u> <u>Bolivia</u> <u>Chile</u></p>	<p>Arbust o o Árbol Perenn e</p>	<p>Altura: 0,20 - 5</p>	<p>Introducido</p>
 <p><i>Solanum chenopodioides</i> (hierba mora)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Santa Fé, Córdoba, Entre Ríos, La Pampa</p>	<p>Hierba Anual</p>	<p>Altura: 0,20 - 1</p>	<p>Endémica</p>
 <p><i>Solanum sarrachoides</i> (hierba mora peluda)</p>	<p><u>Argentina:</u> Bs As., Mendoza, San Luis, Catamarca, Tucumán, Entre Ríos, S. del Estero <u>Chile</u> <u>Uruguay</u> <u>Bolivia</u></p>	<p>Hierba Anual</p>	<p>Altura: 0,10 - 0,50</p>	<p>Nativa</p>

 <p><i>Solanum pygmaeum</i></p>	<u>Argentina:</u> Bs As., Santa Fé, Entre Ríos, Córdoba	Hierba Perenn e	Altura: 0,10 – 0,30	Endémica
--	---	-----------------------	------------------------	----------

Producto de la cría en el laboratorio se obtuvieron 3.548 larvas de geléquidos, de las cuales 2.706 llegaron al estado adulto. A partir de ellos fueron identificadas dos especies y tres morfoespecies de geléquidos minadores, los cuales estuvieron presentes en cinco de las 12 especies de solanáceas registradas (Tablas 3.2 y 3.3, Figs.3.5 y 3.6).

Tabla 3.2. Especies y morfoespecies de geléquidos registrados durante el período de estudio (2013-2015) (Fuente; Lee et al. 2009; Brambila et al. 2010 y observaciones personales).

Geléquido	Longitud promedio del cuerpo	Envergadura de las alas	Diagnosis
Gelechiidae 1	< 5 mm	~ 10 mm	-antenas de color blanco - pequeño porte -coloración grisácea
Gelechiidae 2	< 5 mm	~10 mm	-antenas anilladas -pequeño porte -color gris jaspeado
<i>Phthorimaea operculella</i>	6 mm	10-12 mm	-antenas anilladas de color marrón oscuro. -tórax con 3 largas franjas oscuras -alas anteriores con tres puntos oscuros en el margen interno -abdomen con pelos cerca del vértice

<i>Tuta absoluta</i>	4,5 mm	10-14 mm	-antenas anilladas con escamas oscuras y claras alternadas -palpos labiales largos y curvados, formados por 3 segmentos -hembras con abdomen más desarrollado que los machos
<i>Tuta</i> sp.	4-5 mm	10-14 mm	-antenas anilladas -color castaño



Figura 3.5. Algunas de las solanáceas registradas con daño de insectos minadores, **a-** hojas de *S. americanum* con presencia de mina; **b-** frutos de berenjena con daño; **c-** hoja de *N. glauca* con galería.

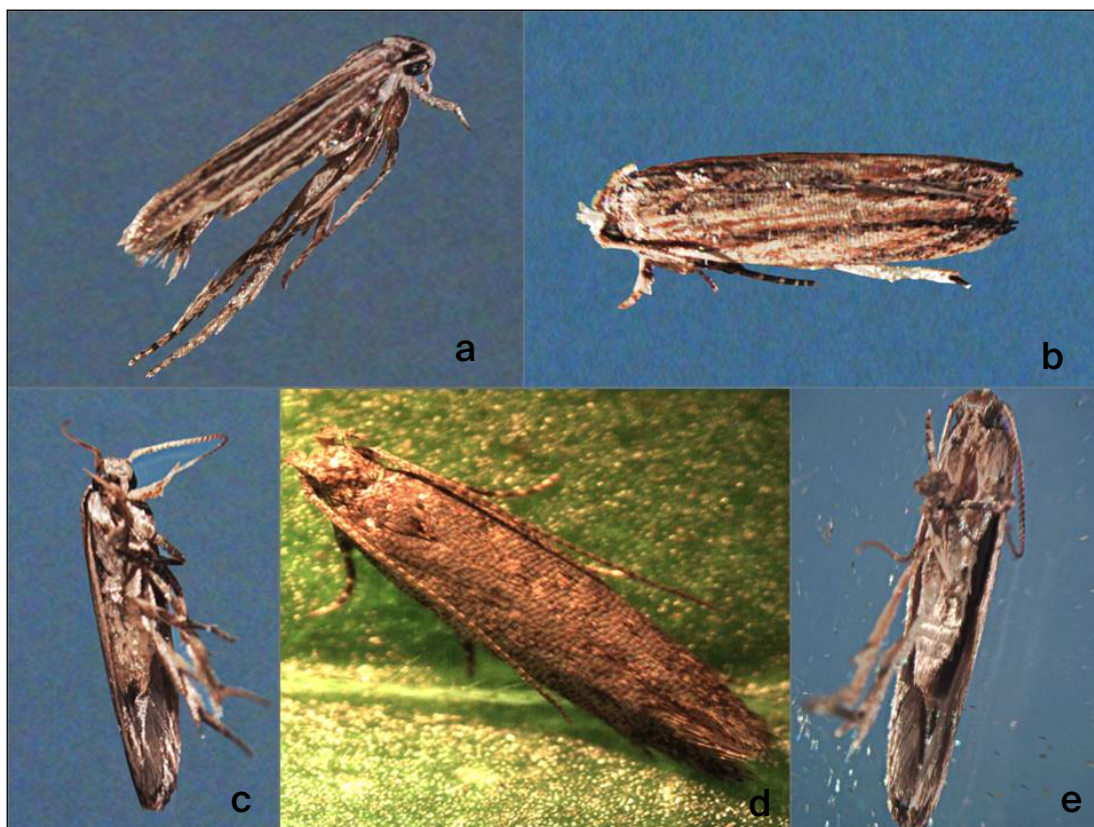


Figura 3.6. Especies de gelequidos registrados (2013-2015), **a-** Gelechiidae 1; **b-** *Phthorimaea operculella*, **c-** *Tuta* sp; **d-** *Tuta absoluta*, **e-** Gelechiidae 2.

La riqueza más alta de gelequidos se observó en *S. sisymbriifolium* (4 especies), mientras que el pimientero, *B. arborea*, *D. ferox*, *N. longiflora*, *S. chenopodioides*, *S. pygmaeum* y *S. sarrachoides* no fueron atacados.

Del total de larvas recolectadas, la mayor abundancia relativa correspondió a *T. absoluta* (98,6%). La polilla del tomate fue registrada en una especie cultivada y en cuatro especies no cultivadas (Tabla 3.3). Respecto a los otros gelequidos, la “polilla de la papa”, *Phthorimaea operculella* Zeller, estuvo presente sólo en *S. sisymbriifolium* al igual que *Tuta* sp. y Gelechiidae 2, mientras que Gelechiidae 1 se registró en *N. glauca*.

Tuta absoluta fue parasitada por un complejo de diferentes especies cuando se alimentaba de las distintas plantas hospedadoras. Del total de larvas minadoras criadas en el laboratorio, 438 individuos de *T. absoluta* fueron parasitados por 18 especies y

morfoespecies de himenópteros: 13 de ellas pertenecientes a la familia Braconidae, una a la familia Encyrtidae, tres a Eulophidae y una a Ichneumonidae. La mayoría de las especies de parasitoides obtenidas pertenecieron al gremio endoparasitoide koinobionte y todas ellas fueron solitarias con la excepción de *Copidosoma* sp., que es una especie poliembriónica. Las larvas correspondientes a los otros geléquidos minadores no estuvieron parasitadas (Tabla 3.3; Fig. 3.7). Finalmente, la abundancia relativa de *P. dignus* varió entre 30 y 97% (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Especies de solanáceas, abundancia relativa de insectos registrados y gremios (S: riqueza específica; *n° de larvas de geléquidos, **n° de parasitoides).

Planta hospedera	Especies de geléquidos (abundancia relativa)	Parasitoides (abundancia relativa)	Gremios
------------------	--	------------------------------------	---------

Cultivadas

Capsicum annum

<i>Solanum melongena</i>	<i>Tuta absoluta</i> (100%)	Braconidae	
		<i>Pseudapanteles dignus</i> (97%)	L- endo
		Eulophidae	
		<i>Dineulophus phthorimaeae</i> (1,5%)	L-ecto
		Ichneumonidae	
		Ichneumonidae 1 (<1%)	L- endo
		Campopleginae1 (<1%)	L- endo

Silvestres

*Brugmansia arborea**Datura ferox**Nicotiana glauca*

Gelechiidae 1 (1%)

Tuta absoluta (99%)**Braconidae**

Agathidinae 1 (58,9%) L- endo

Agathidinae 3 (2,2%) L- endo

Bracon sp (1,5%) L- endo

Hormiinae 1 (1,5%) L-ecto

Hormiinae 2 (2,2%) L-ecto

Microgastrinae 3 (2,2%) L- endo

Orgilus sp (1,5%) L- endo*Pseudapanteles dignus*
(30%) L- endo*Nicotiana longiflora**Salpichroa organifolia**Tuta absoluta* (100%)**Braconidae**

Microgastrinae 2 (100%) L- endo

*Solanum americanum**Tuta absoluta* (100%)**Braconidae**

Agathidinae 2 (10%)

Microgastrinae 1 (3,5%) L- endo

Pseudapanteles dignus
(62,5%) L- endo**Encyrtidae***Copidosoma sp* (10%) E-L**Eulophidae**

		<i>Chrysocharis sp</i> (3,5%)	L- endo
		Eulophidae 1 (3,5%)	L-ecto
		Ichneumonidae	
		Ichneumonidae 1 (7%)	L- endo
	<i>Solanum chenopodioides</i>		
	<i>Solanum pygmaeum</i>		
	<i>Solanum sarrachoides</i>		
	<i>Solanum sisymbriifolium</i>	<i>Phthorimaea operculella</i> (25%)	
		Gelechiidae 2 (2,5%)	
		<i>Tuta sp.</i> (3,33%)	
		<i>Tuta absoluta</i> (69,17%)	Braconidae
			Microgastrinae 4 (25%) L- endo
			<i>Pseudapanteles dignus</i> (75%) L- endo
S	5	18	
N	3548*	438**	

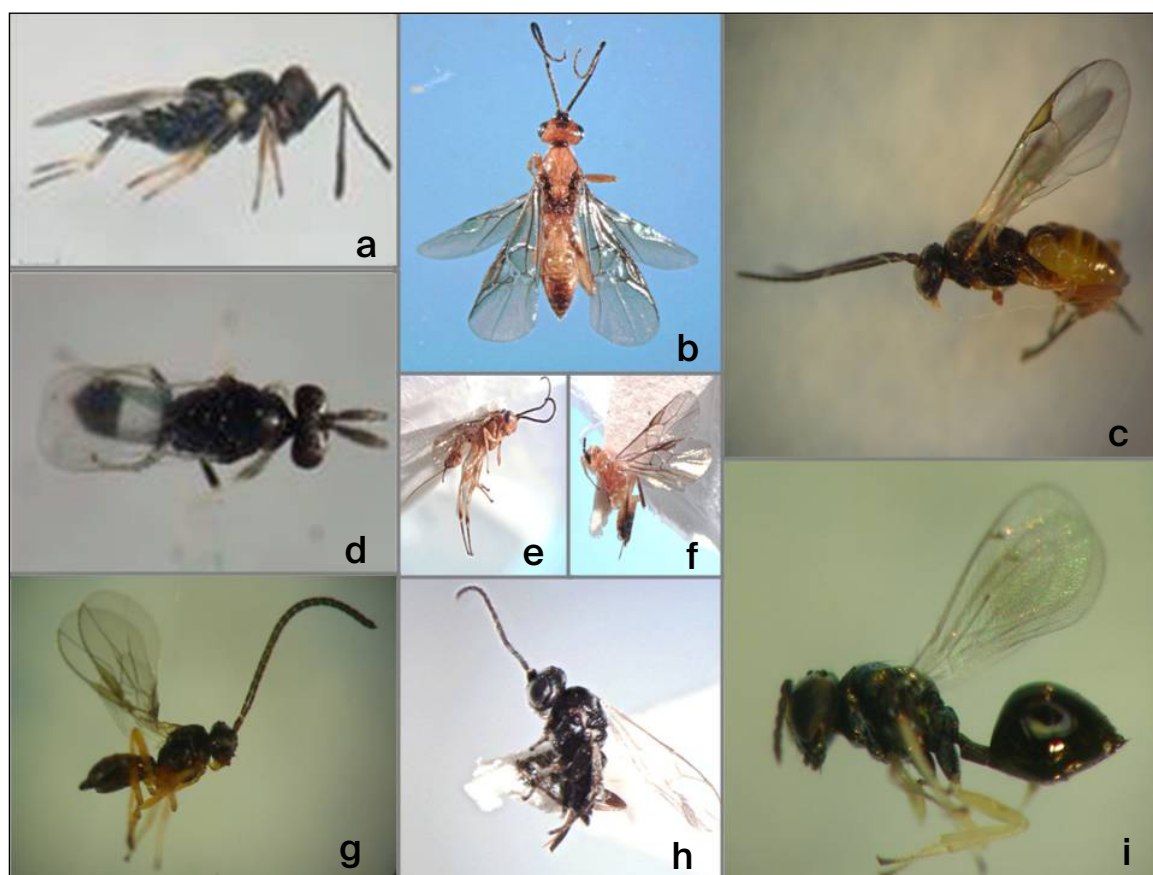


Figura 3.7. Complejo de parasitoides registrados en asociación con *T. absoluta* durante el período de estudio, **a-** *Copidosoma* sp.; **b-** Agathidinae 1; **c-** *P. dignus*; **d-** *D. phthorimaeae*; **e-** Agathidinae 2; **f-** *Bracon* sp. **g-** Hormiinae 1 **h-** Microgastrinae 1; **i-** *Chrysocharis* sp.

La trama trófica cuantitativa mostró que la abundancia relativa de *T. absoluta* fue mayor en berenjena, seguida por las plantas silvestres *N. glauca*, *S. americanum*, *S. sisymbriifolium* y *S. organifolia* (Fig. 3.8). La mayor riqueza específica de parasitoides asociadas a *T. absoluta* se observó en *N. glauca* ($S = 8$) y *S. americanum* ($S = 7$). En general, *P. dignus* fue la especie dominante y su parasitismo estuvo relacionado con la abundancia de *T. absoluta* en cada planta hospedera, alcanzando los mayores valores cuando la plaga se alimentaba de berenjena.

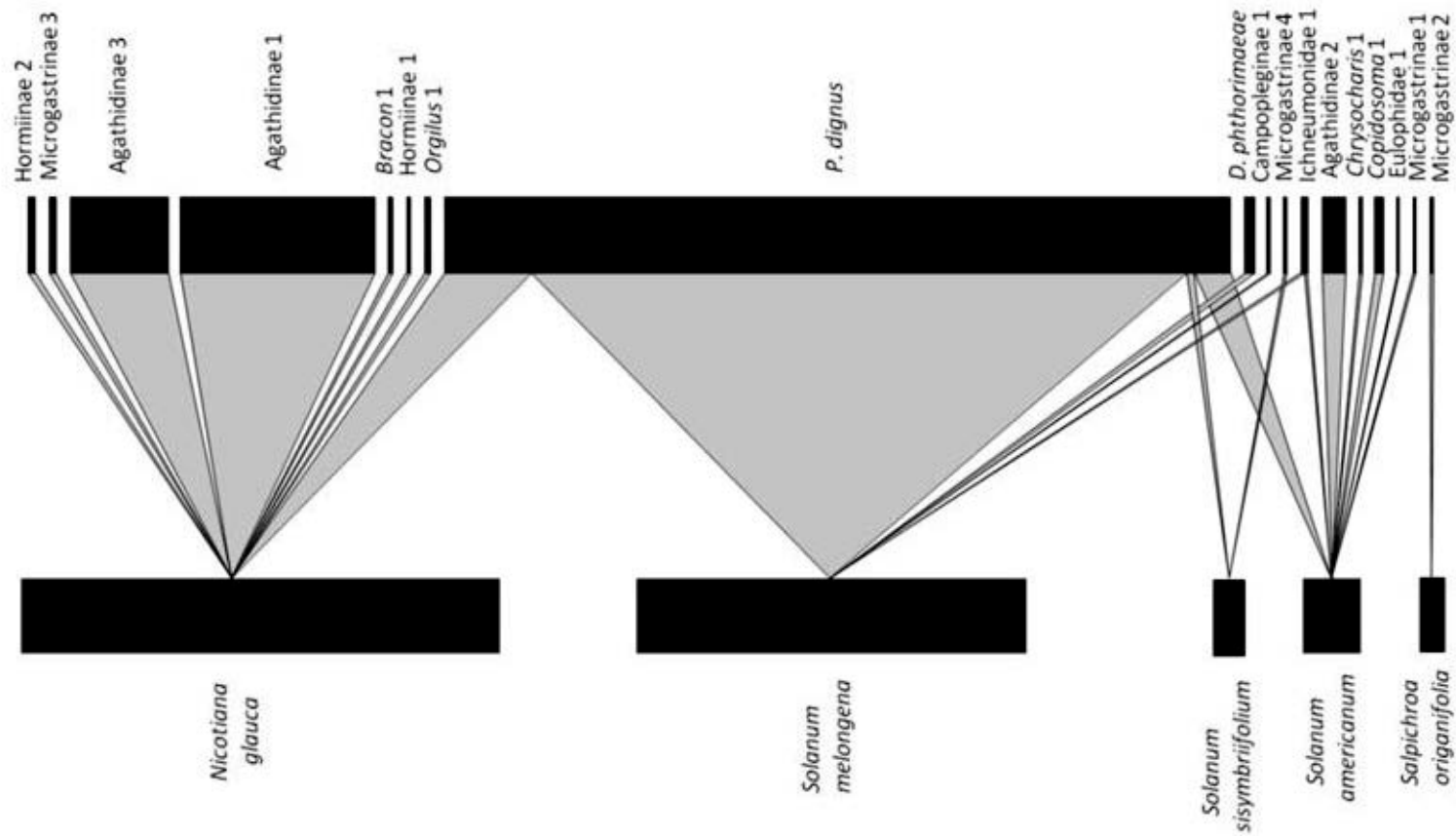


Figura 3.8. Trama trófica cuantitativa de parasitoides asociados a *Tuta absoluta* en el CHP, durante el período de estudio (2013-2015) (ver más detalles de la construcción de tramas tróficas en el texto).

A continuación se presenta una breve diagnosis de cada una de las especies y morfoespecies de parasitoides registradas en este estudio. Es importante resaltar que el estudio taxonómico de microhimenópteros suele ser dificultoso debido a su pequeño tamaño corporal, su baja densidad poblacional y a la marcada variabilidad morfológica y biológica dentro de una misma especie (Salvo, 2008).

En las alas se encuentran caracteres fundamentales para la identificación de microhimenópteros, tales como el patrón de venación y la presencia de setas (Fig. 3.9).

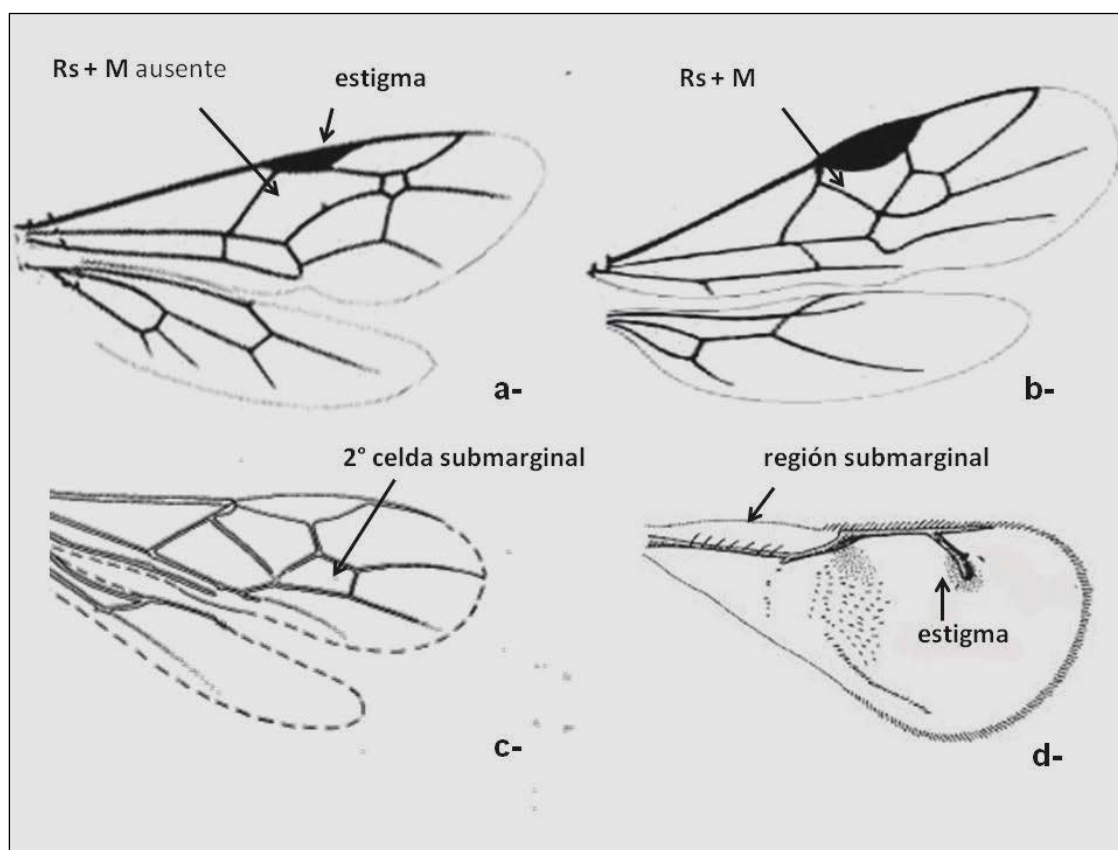


Figura 3.9. Patrón alar. **a-** alas anterior y posterior de Ichneumonidae; **b-** alas anterior y posterior de Braconidae; **c-** alas de Hormiinae; **d-** ala anterior de Eulophidae.

Familia **Ichneumonidae**

Constituye el mayor grupo dentro de Hymenoptera. Con más de 60.000 especies a nivel mundial.

Especies/morfoespecies: Ichneumonidae 1

Planta/s: *S. melongena*; *S. americanum*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: mandíbulas usualmente con dos dientes. Tergos metasomales 2 y 3 casi siempre separados por una sutura flexible. Ala anterior con celdas 1M y 1R1 confluentes por la ausencia de la vena Rs + M (celda discocubital) (Fig. 4.9).

Biología: Típicamente son parasitoides internos (endoparasitoides) o externos (ectoparasitoides) de Lepidoptera y Coleoptera, con estrategias de vida idiobionte o koinobionte. Comúnmente se observa en esta familia el fenómeno de hiperparasitismo o parasitismo secundario. Se conoce poco acerca de su comportamiento reproductivo, y el desarrollo larval consta normalmente de 5 estadios. El primero de



Ichneumonidae 1

ellos tiene forma ahusada con una cápsula cefálica bien desarrollada y mandíbulas notablemente esclerotizadas, mientras que los estadios larvales subsiguientes se hacen progresivamente más himenopteriformes. Las hembras son de mayor tamaño que los machos, variando el periodo de preoviposición dentro de la familia. Poseen una gran variedad de estrategias defensivas para persuadir depredadores, desde coloraciones miméticas y espinas en el pronoto hasta conspicuas garras tarsales provistas de veneno.

Subfamilia **Campopleginae**

Constituye una de las dos subfamilias económicamente más importantes dentro de Ichneumonidae.

Especies/morfoespecies: Campopleginae

Planta/s: *S. melongena*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: ala anterior con estigma delgado (Fig. 4.9). Clipeo por lo general no separado de la cara por una sutura. Cara enteramente negra.

Biología: son endoparasitoides larvo-pupales y koinobiontes, que en general han adoptado una gran variedad de estrategias para proteger a sus capullos de los depredadores. Los géneros **Capoplex** y **Diadegma** están descriptos para



Campopleginae

Argentina parasitando a los geléquidos minadores *Phthorimaea operculella* y *Tuta absoluta*. Siendo el primero de ellos registrado en ambas especies y el segundo sólo en *T. absoluta*.

Familia **Braconidae**

Doce de las 18 especies y morfoespecies halladas en el presente estudio pertenecieron a la familia Braconidae. La que, con alrededor de 40.000 especies estimadas para el mundo, ocupa el segundo lugar en número de especies dentro de Hymenoptera, sin embargo es una de las más importantes económicamente, debido a su utilización para el control de insectos plaga.

Diagnos: mandíbula típicamente bidentada (algunas veces exodonta con tres a siete dientes), antenas con más de 14 segmentos, tergomasosales 2 y 3 fusionados. Ala anterior en general con celdas 1M y 1R1 separadas por la vena Rs + M (Fig. 4.9).

Biología: son endo o ectoparasitoides, con estrategias koinobionte o idiobionte, que parasitan principalmente a insectos holometábolos en fase larva o huevo-larva; dándose también el parasitismo de adultos y ninfas de hemimetábolos en algunas subfamilias. El parasitismo gregario es común dentro de este grupo y no así el hiperparasitismo. En general prefieren los climas cálidos y húmedos. Siendo uno de los aspectos más sobresalientes de su biología, los distintos grados de especialización utilizados para vencer el sistema inmune del hospedero; que van desde glándulas especializadas de veneno hasta complejas simbiosis con partículas virales.

Subfamilia **Agathidinae**

Subfamilia de importancia económica, con algunos géneros utilizados en el control biológico de lepidópteros plaga.

Especies/morfoespecies:

Aghatidinae 1; *Aghatidinae* 2; *Aghatidinae* 3

Planta/s: *N. glauca*; *S. americanum*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnos: labro plano o convexo, carena occipital completamente ausente. Ala anterior con vena Rs + M ausente o incompleta dejando una celda discocubital, (Fig. 4.9), mesotibia con espinas preapicales, piezas bucales alargadas. Presencia de glándulas tergaes especializadas en los machos, ubicadas en los segmentos metasomales TVI y TVII.

Biología: todos los agathidinae son endoparasitoides koinobiontes de larvas de microlepidópteros. La gran



Agathidinae 1

mayoría de las especies son solitarias, e independientemente del estadio al que parasiten, en todos los casos el adulto del parasitoide emerge después del último estadio larval del hospedador.

En Argentina están descriptos los géneros *Aghatis* y *Earinus* parasitando a *Tuta absoluta* en Tucumán y el género *Bassus* sobre distintas especies de lepidópteros minadores de hoja en Córdoba.

Subfamilia **Microgastrinae**

Es la subfamilia de mayor importancia económica debido a su efectividad en el control de lepidópteros plaga. Más de 100 especies de este grupo han sido utilizadas en todo el mundo para tal fin.

Especies/morfoespecies: Microgastrinae 1; Microgastrinae 2; Microgastrinae 3; Microgastrinae 4; *Pseudapanteles dignus*

Plantas: *S. melongena*; *S. origanifolia*; *S. americanum*; *S. sisymbriifolium*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: antenas con 16 flagelómeros, espiráculos del primer segmento metasomal situados en los tergos laterales. Venación alar reducida apicalmente.

Biología: todas las especies son endoparasitoides koinobiontes de larvas, casi exclusivamente de lepidópteros, con un gran espectro taxonómico y biológico.



Microgastrinae 1

co. Todos ellos abandonan al hospedero en el último estadio larval para pupar. La mayoría de las especies son solitarias aunque un gran número de ellas son gregarias. Entre los principales géneros citados para Argentina se encuentran, *Dolichogenidea*, *Hypomicrogaster*, *Pholetesor*, *Apanteles*, *Pseudapanteles*, todos ellos endoparasitoides larvales de microlepidópteros minadores de hoja, siendo *Pseudapanteles dignus* uno de los más estudiados como potencial biocontrolador de *Tuta absoluta*.

Subfamilia **Braconinae**

Es una subfamilia cosmopolita, con más de 150 géneros y cerca de 3.000 especies descritas en todo el mundo. Varias especies fueron utilizadas en programas de control biológico.

Especies/morfoespecies: *Bracon sp.*

Plantas: *N. glauca*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: depresión redondeada sobre la mandíbula formada por el clipeo y el labro. Carenas occipital ausente. Terguito medio del peciolo aplanado lateralmente con área media en forma de cúpula.

Biología: generalmente son ectoparasitoides idio-biontes de larvas ocultas de Lepidoptera y Coleop-



Bracon sp.

tera. Algunas especies parasitan larvas de dípteros. Normalmente son sinovigénicos y paralizan previamente al hospedador inyectándole veneno. Presentan parasitismo solitario y gregario. El género *Bracon* ha sido descrito para Argentina parasitando a *Tuta absoluta* y *Phthorimaea operculella*.

Subfamilia **Hormiinae**

Algunas especies de esta subfamilia han sido utilizadas para el control biológico de agromizidos minadores de hoja.

Especies/morfoespecies: Hormiinae 1;
Hormiinae 2

Planta/s: *N. glauca*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: labro cóncavo y expuesto. Segunda célula submarginal cuadrangular (Fig. 4.9). Terguitos del metasoma poco esclerotizados o membranosos.

Biología: la mayoría de las especies son ectopara-



Hormiinae 1

sitoides idiobiontes de hospedadores ocultos como minadores o enrolladores de hoja, barrenadores de tallos y semillas. Con especies solitarias y gregarias.

Subfamilia **Orgilinae**

Algunas especies del género *Orgilus* han sido usadas para control biológico de lepidópteros plaga.

Especies/morfoespecies: *Orgilus sp.*

Planta: *N. glauca*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: cuerpo delgado; antenas moderadamente largas y ovipositor expuesto. Carena occipital presente lateralmente. Pequeñas espinas cerca del ápice de la tibia posterior. Espolón metatibial largo.

Biología: Hasta donde se conoce, todas las especies son endoparasitoides koinobiontes solitarios



Orgilus sp.

de larvas de Lepidoptera. En Argentina el género ***Orgilus*** está citado sobre varias especies de minadores de hoja, entre ellos *Phthorimaea operculella*. Colomo et al. (2002) hallaron ejemplares de este género en muy baja densidad sobre *Tuta absoluta*.

Familia **Eulophidae**

Dentro de este grupo existe una diversidad extremadamente grande. Son comunes en todos los hábitats, con más de 4.288 especies 294 géneros.

Especies/morfoespecies: Eulophidae 1

Planta/s: *S. melongena*; *S. americanum*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: tarsos con 4 segmentos; antena generalmente con 2- 4 segmentos funiculares. Antena insertada en o debajo del margen inferior del ojo. Metasoma constreñido en la base. Tarsos de pata 1 con espolón tibial recto. En la mayoría de ellos la talla fluctúa entre 1-2 mm. Color altamente variable, pero la mayor parte de las especies son de color marrón oscuro, negro o con colores metálicos.



Eulophidae 1

Biología: Existen especies con biología muy diferentes: idiobiontes y koinobiontes, endo y ectoparasitoides, parasitoides de huevo, larva, larvopupales y pupales. Los hospedadores incluyen un enorme número de taxones. Atacan comúnmente larvas de Lepidoptera, Diptera, Coleoptera e Hymenoptera.

Subfamilia **Eulophinae**

Incluye varias especies de importancia económica, controladores naturales de minadores de hoja.

Especies/morfoespecies: *Dineulophus phthorimaeae*

Planta: *S. melongena*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: machos generalmente con antenas ramificadas. Al menos tres setas en la región submarginal del ala anterior (Fig. 4.9). Dos pares de setas en el mesoesocudo.

Biología: en general son parasitoides primarios de lar-



D. phthorimaeae

vas que se alimentan en lugares protegidos, la mayoría de las especies son ectoparasitoides idiobiontes, con algunas formas hiperparasitoides. La especie *Dineulophus phthorimaeae* ha sido descrita para Argentina sobre *Tuta absoluta* y *Phthorimaea operculella*.

Subfamilia **Entedontinae**

Algunas especies de esta subfamilia han sido utilizadas con éxito en programas de control biológico.

Especies/morfoespecies: *Chrysocharis* sp.

Planta/s: *S. americanum*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: escutelo con un par de setas. Región submarginal del ala anterior con dos setas (Fig. 4.9).

Biología: endoparasitoides primarios de minadores de



Chrysocharis sp.

hoja de los órdenes Diptera, Lepidoptera, Coleoptera e Hymenoptera. El género ***Chrysocaris*** ha sido descrito para Argentina sobre minadores de hoja.

Familia **Encyrtidae**

Familia con amplio rango de especies hospedadas desde minadores de hoja hasta garrapatas (Ixodidae).

Especies/morfoespecies: *Copidosoma* sp.

Planta/s: *S. americanum*

Hospedador: *Tuta absoluta*

Diagnosis: Ala anterior con una línea calva bien definida. Mesopleura convexa dividida en dos partes. Placas externas del ovipositor triangulares. Espiráculos anteriores en el abdomen. Escapos largos.



Copidosoma sp.

Biología: la mayoría de las especies son solitarias aunque también existe el parasitismo gregario. Algunas especies presentan hiperparasitismo. El género ***Copidosoma*** ha sido citado sobre *Tuta absoluta* para Chile y Perú.

Tuta absoluta y *P. dignus* mostraron diferente estacionalidad en las distintas plantas hospedadas. Co-ocurrieron durante todo el año en berenjena, mientras que en las solanáceas silvestres *S. americanum*, *S. sisymbriifolium* y *N. glauca*, ambas especies coincidieron de manera esporádica en períodos que van de dos a cinco meses. En *S. organifolia*, a pesar de que *T. absoluta* estuvo presente, no se observó a *P. dignus* (Fig. 3.10).

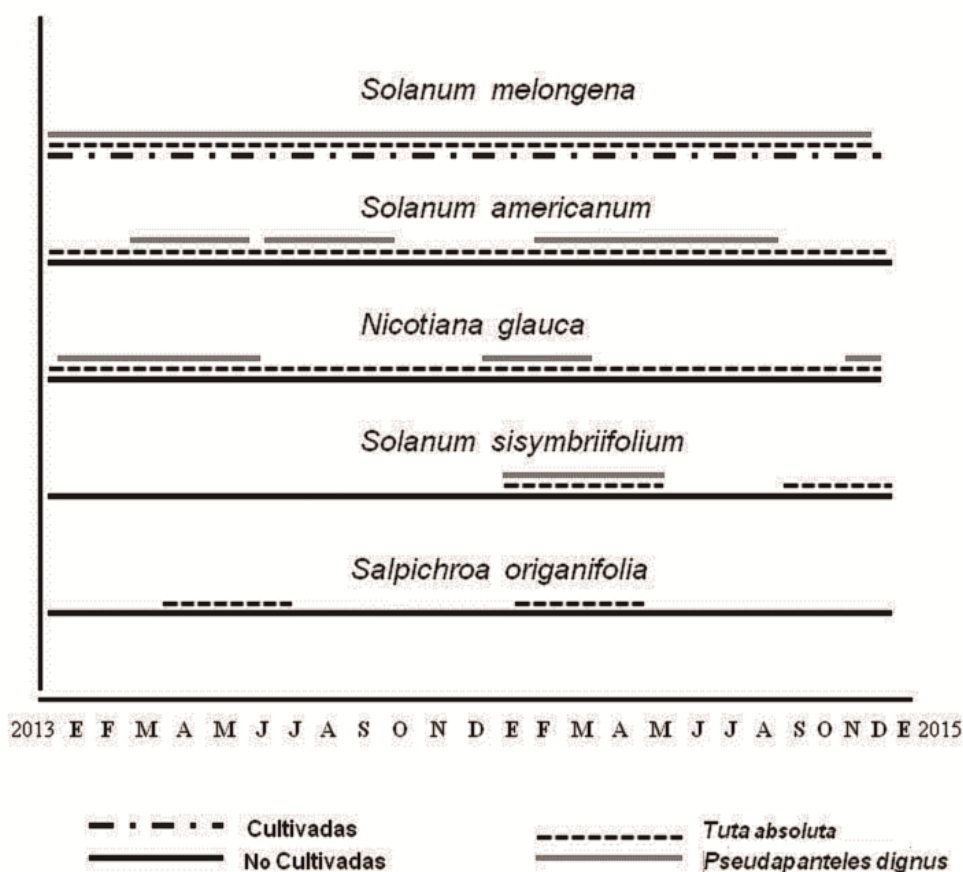


Figura 3.10. Perfiles fenológicos indicando la estacionalidad de *Tuta absoluta* y *Pseudapanteles dignus* en cinco especies de solanáceas presentes en el CHP, durante el período de estudio (2013-2015).

La abundancia de *T. absoluta* y el parasitismo de *P. dignus* exhibieron un patrón de oscilaciones acopladas en berenjena, mientras que en *S. americanum*, *N. glauca* y *S. sisymbriifolium* mostraron ciclos de aumento y colapso. La abundancia de *T. absoluta* fue mayor en berenjena y *N. glauca* ($\approx 0,5$ larvas por hoja) que en *S. americanum* y *S. sisymbriifolium* ($<0,1$ larvas por hoja). Las tasas de parasitismo alcanzaron valores de 33, 31, 29 y 17% en berenjena, *S. americanum*, *S. sisymbriifolium* y *N. glauca*, respectivamente (Figura 3.11 y 3.12).

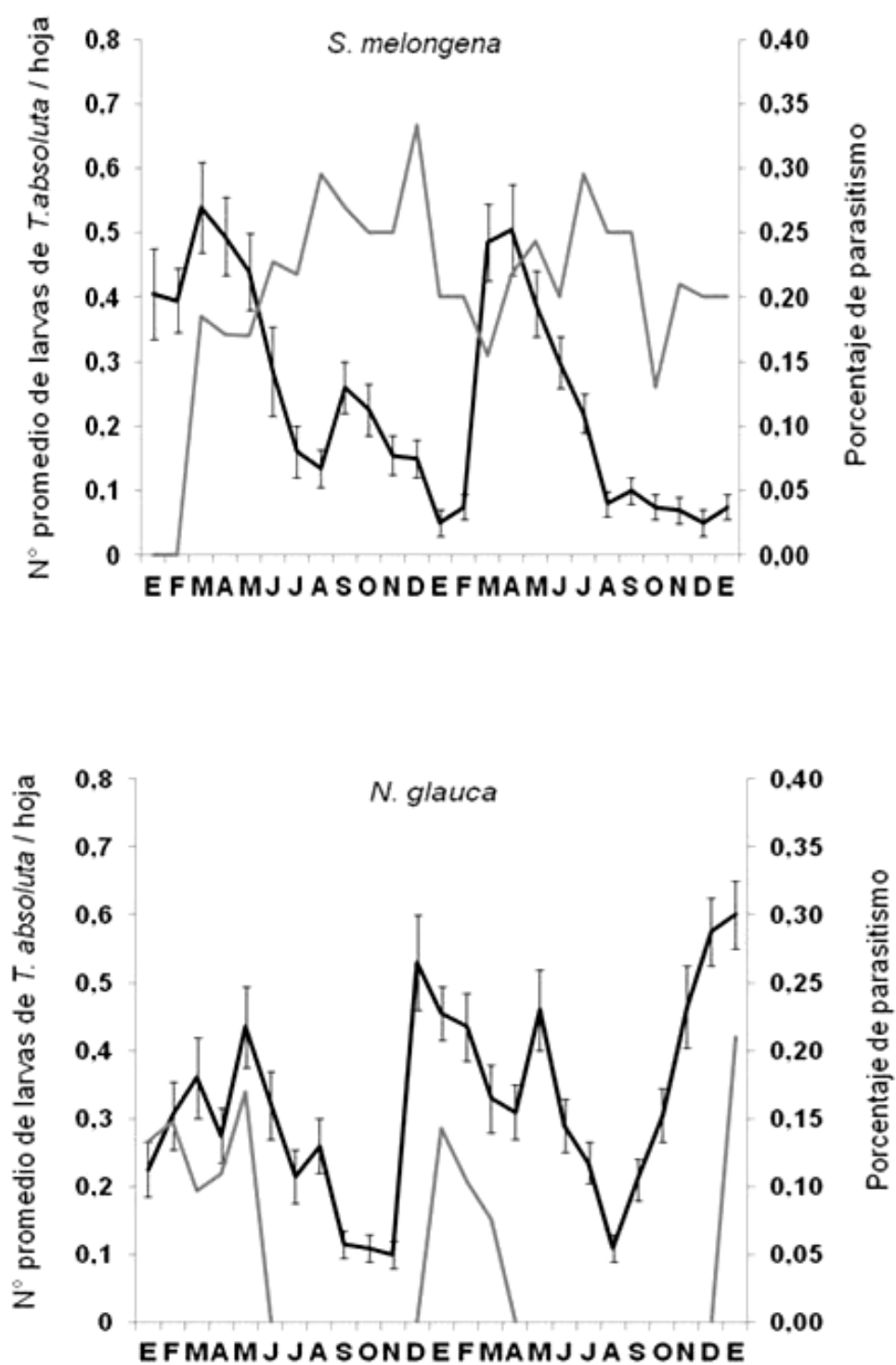


Figura 3.11. Número promedio (\pm ES) de larvas de *Tuta absoluta* por hoja y porcentaje de parasitismo de *Pseudapanteles dignus* en *S. melongena* y *N. glauca*. Período 2013-2015. (Línea negra: abundancia de *T. absoluta*; línea gris: porcentaje de parasitismo por *P. dignus*).

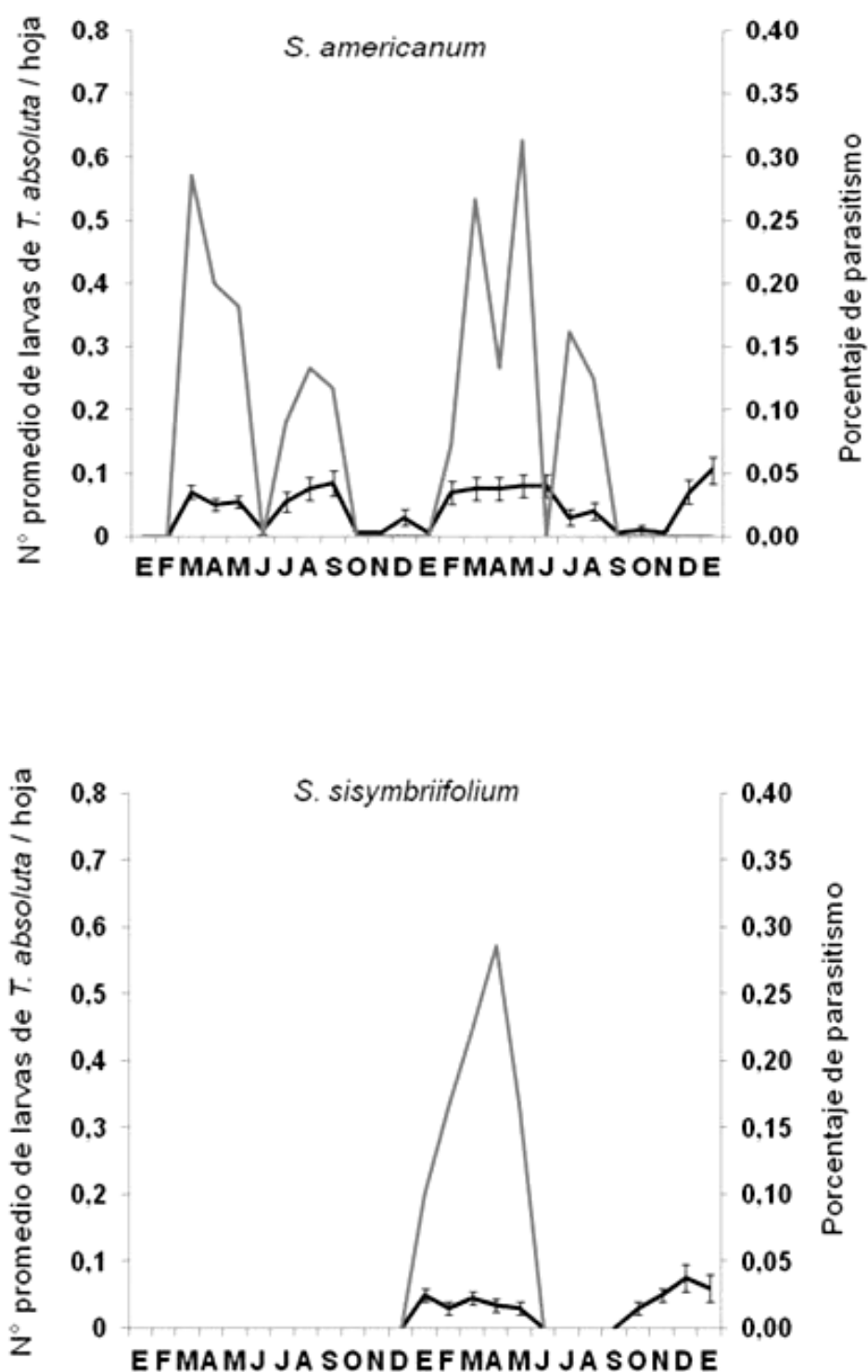


Figura 3.12. Número promedio (\pm ES) de larvas de *Tuta absoluta* por hoja y porcentaje de parasitismo de *Pseudapanteles dignus* en *S. melongena* y *N. glauca*. Período 2013-2015. (Línea negra: abundancia de *T. absoluta*; línea gris: porcentaje de parasitismo por *P. dignus*).

3.4 Discusión

En esta investigación se describe por primera vez el ensamble de parasitoides asociado a *T. absoluta* en las distintas especies de solanáceas cultivadas y silvestres del CHP (NE de la prov. de Buenos Aires, Argentina), lo cual brinda información novedosa acerca de la diversidad y abundancia de los mismos en estos agroecosistemas.

Con respecto a las especies de avispas, se halló un nuevo registro de la presencia de *Copidosoma* sp. en asociación con *T. absoluta*. Este género, parasitoide de muchas familias de Lepidoptera, presenta poliembrionía, es decir, la formación de múltiples embriones a partir de un único embrión, la cual se denota como una forma de reproducción (Grbic, 2003). Por su importancia, en el campo del control biológico agrícola, se han generado muchos y muy diversos estudios relacionados con algunas especies de este género. Doult (1947), entre otros autores, ha estudiado el desarrollo poliembriónico de la especie *Copidosoma koehleri* (Blanchard) (Hymenoptera: Encyrtidae), utilizada ampliamente en el control biológico de lepidópteros plaga en Latinoamérica y el mundo. La facultad de producir múltiples individuos de un solo huevo y su capacidad de mantener poblaciones de insectos plaga en niveles por debajo del daño económico, han despertado el interés de los investigadores por conocer más de esta avispa parasítica, como contribución a la entomología y aplicado a las ciencias agrarias (Santamaría et al. 2007).

Por otra parte, se registró por primera vez al género *Chrysocharis* sp. (Hymenoptera: Eulophidae), un endoparasitoide larval de minadores de hoja principalmente de los ordenes Lepidoptera y Diptera. Este parasitoide ha sido citado para Argentina en asociación con el género *Lyriomiza* sp. (Salvo, 2008). El hallazgo de estas dos especies en el sistema de estudio, resulta entonces en un aspecto importante a tener en cuenta para la realización de futuras investigaciones que evalúen el aporte de estos parasitoides al control biológico de *T. absoluta* por medio de insectos entomófagos en el CHP.

Además, en esta investigación se evidencia por primera vez la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* en otras especies de solanáceas diferentes del tomate. Los resultados obtenidos en este estudio apoyan la hipótesis previamente planteada de que la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* es parte de una compleja red alimentaria, conformada por solanáceas cultivadas y de crecimiento espontáneo; *T. absoluta* y otros geléquidos; y *P. dignus* y otros parasitoides larvales. Esta información amplía la diversidad natural de plantas hospederas de *T. absoluta*, y confirma el estrecho rango de insectos hospedadores de *P. dignus* para esta región. *Pseudapanteles dignus* exhibió una mayor especificidad por la especie hospedadora, parasitando únicamente a *T. absoluta*, independientemente de la especie vegetal en la que esta se hallara. Esta mayor especificidad de los parasitoides por la especie de insecto hospedador que por la planta hospedera fue también señalada por Kenis et al. (2005), en un estudio realizado sobre el complejo de parasitoides asociados a geométridos en bosques alpinos.

En general, la trama trófica basada en *T. absoluta* reveló aspectos interesantes a ser considerados en futuros programas de control biológico y manejo de plagas en predios hortícolas del CHP. En primer lugar, puede considerarse que, a pesar de las bajas abundancias de este minador en las solanáceas silvestres y cultivadas, diferentes del tomate, hospeda a un rico complejo parasitario constituido por 18 especies y morfoespecies de parasitoides de geléquidos. Probablemente, estas especies vegetales benefician a los parasitoides proporcionándoles recursos (florales y extraflorales), insectos hospedadores potenciales y refugio, alternativos al cultivo de tomate (Fiedler et al. 2008).

La mayoría de los parasitoides registrados en este estudio correspondieron al gremio de endoparasitoides larvales y sólo cuatro especies al gremio de ectoparasitoides larvales, a pesar de ser este último considerado el gremio dominante en las comunidades de parasitoides de hospedadores ocultos según Mills (1994). Estos resultados brindan información sobre la ecología funcional de las especies involucradas, es decir, como utilizan el recurso y el nicho que ocupan. Por otra parte, cuando se trata de un complejo de enemigos naturales atacando a una especie plaga, el enfoque de gremios de Mills (1994) permite conocer las posibles interacciones competitivas

interespecíficas entre los individuos y proporciona fundamentos para la manipulación de las especies utilizadas en los programas de control biológico.

Otro aspecto a destacar producto de este estudio es que solamente *P. dignus* pareció establecer una interacción persistente con *T. absoluta* en berenjena y *S. americanum*. La interacción observada en estas dos solanáceas fue similar a la registrada en tomate por Nieves et al. (2015) para todo el ciclo tardío, también en el CHP (diciembre a abril), exhibiendo las típicas oscilaciones huésped-parasitoide. La berenjena y el tomate representan recursos concentrados y fáciles de encontrar para la plaga, lo que permite su rápido aumento poblacional y la posterior colonización del parasitoide. Por otra parte, el hallazgo de una interacción más duradera en el tomatillo es más difícil de explicar debido a la poca información biológica que se tiene de esta especie de planta, aunque su amplia distribución geográfica, su presencia regular en los predios, su hábito perennifolio, entre otros factores, podrían estar favoreciendo la persistencia de ambas especies. Más estudios que enfoquen aspectos de la herbivoría o de interacciones tritróficas (planta-hospedador-enemigo natural) ayudarían a dilucidar esta cuestión (Williams et al. 1988; Price et al. 2011).

Contrariamente, en *N. glauca* y *S. sisymbriifolium*, la interacción *T. absoluta* -*P. dignus* mostró ciclos de aumento y extinción a lo largo del año, lo que sugiere que la interacción presenta una estructura de metapoblación (Levins, 1969; Hanski, 1998). La existencia de diferentes parches de hábitats a escala de agroecosistema permitiría mantener subpoblaciones de *P. dignus* con ciclos dinámicos de diferente duración, relativamente independientes, que persisten debido a procesos de re-colonización. Esta dinámica metapoblacional aseguraría la persistencia a largo plazo de la interacción *T. absoluta* -*P. dignus*, impidiendo la extinción ecológica de las poblaciones locales de *P. dignus* (Letourneau, 1998).

Cabe destacar que si bien la abundancia de *T. absoluta* en *N. glauca* fue relativamente alta y similar a la de *S. melongena*, el parasitismo de *P. dignus* fue bajo y esporádico. Considerando que en *N. glauca* una especie de Agathidinae, del mismo

gremio que *P. dignus*, fue registrada con un alto parasitismo, se sugiere que esta morfoespecie podría haber desplazado a *P. dignus*, en la competencia por el huésped.

En este trabajo de Tesis se reporta por primera vez en el CHP la presencia de otra especie de geléquido de importancia económica, la “polilla de la papa” *Phthorimaea operculella* (Zeller), así como su asociación con la especie de solanácea silvestre *Solanum sisymbriifolium*, comúnmente denominada “tutiá”. Esta información amplía el conocimiento de la distribución actual de esta plaga característica del cultivo de papa, en la provincia de Buenos Aires, Argentina, para la cual sólo existen citas en la zona de Balcarce, Capital Federal y Tandil (Cordo et al. 2004) y de su rango de plantas hospederas. Mendes (1939), en un estudio de laboratorio sobre la oviposición y desarrollo de *P. operculella* en distintas especies de solanáceas silvestres, encontró que la polilla puede usar como planta hospedera a *Nicotiana glauca*, *N. glutinosa*, *N. sylvestris* y *Datura* sp. Sin embargo, las interacciones mencionadas en ese trabajo nunca fueron registradas en el campo (Pastrana, 2004). *Phthorimaea operculella* se comporta fundamentalmente como plaga en el cultivo de papa, no obstante puede desarrollarse con una menor frecuencia sobre el tabaco y el tomate (USDA, 2011). Esta especie ha sido reportada como plaga del tomate en EE.UU y Venezuela (Salas & Quiroga, 1985; Salas, 2007; USDA, 2011), mientras que para la Argentina no representa, hasta el momento, una amenaza en este cultivo. Del mismo modo que la polilla del tomate *T. absoluta*, la polilla de la papa *P. operculella* es un microlepidóptero geléquido de hábito minador, con una marcada preferencia hacia las especies vegetales de la familia Solanaceae. Ambas especies presentan un aspecto externo similar y para diferenciarlas se utilizan tanto caracteres morfológicos externos, como el patrón de coloración de sus alas, y estructuras internas, tales como la genitalia del macho (Lee et al. 2009). En este estudio no se encontraron parasitoides asociados a *P. operculella*, probablemente debido a su baja abundancia poblacional (Hawkins, 1994). Sin embargo, otros autores han reportado la asociación de los parasitoides *P. dignus*, *D. phthorimaeae*, *Bracon cuyanus* (Blanchard), *Orgilus lepidus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae) y *Campoplex haywardi* Blanchard (Hymenoptera: Ichneumonidae) con esta plaga en la Argentina (Salvo, 2008).

En los sistemas de cultivos anuales, el uso intensivo de plaguicidas de amplio espectro así como los patrones cíclicos de cultivo, cosecha y barbecho, contribuyen a la pérdida de enemigos naturales (Barbosa, 1998). Se reconoce que las plantas no cultivadas pueden proporcionar hábitats y recursos a los enemigos naturales. Varios estudios apoyan el papel de la vegetación silvestre en evitar la extinción ecológica de enemigos naturales, así como en la mejora de los servicios ecosistémicos mediados por artrópodos en los paisajes agrícolas (Fiedler et al. 2008; Isaacs et al. 2009; Gurr et al. 2012, Blaauw & Isaacs, 2015).

Los resultados obtenidos indican que las especies silvestres *N. glauca*, *S. americanum*, y *S. sisymbriifolium* ayudarían a mantener la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* en los cultivos de solanáceas. Estudios recientes demuestran el impacto positivo de la vegetación en la diversidad de las comunidades de insectos (parasitoides y depredadores) que atacan a *T. absoluta* en los sistemas agrícolas (Zappalà et al. 2013; Bawin et al. 2015). En relación a los depredadores, se está prestando cada vez más atención a aquellos que comúnmente habitan en los cultivos de tomate y al potencial de los mismos para el control de esta plaga en América (de Medeiros et al. 2009; Bueno et al. 2013; Pereira et al. 2014; Speranza et al. 2014), y en la cuenca mediterránea (Urbaneja et al. 2012; Chailleux et al. 2013; Ingegno et al. 2013; Zappalà et al. 2013; Abbas et al. 2014; Salas Gervassio et al. 2016a).

Se ha señalado que el aumento de la diversidad vegetal en los agroecosistemas puede propiciar la presencia de otras plagas o beneficiar al cuarto nivel trófico, por ejemplo, los hiperparasitoides (Messelink et al. 2014). En este estudio, tras una inspección directa y minuciosa de las plantas silvestres involucradas, no se ha observado la presencia de otros herbívoros de importancia hortícola, como aletróidos o áfidos (con la excepción de *P. operculella*, pero que no se comporta como plaga del tomate en esta región), ni de hiperparasitoides.

Respecto a la posibilidad de implementar un CBC de *T. absoluta* en la Argentina, las prácticas actuales del uso de plaguicidas deberían ser modificadas. Esto implicaría la eliminación y/o reducción del número de aplicaciones y/o el uso de plaguicidas

selectivos. Conjuntamente, se debería fomentar la investigación de otras técnicas fitosanitarias (por ej. la rotación de cultivos, la utilización de genotipos resistentes, cultivos trampa, policultivos, etc.) a fin de proporcionar a los agricultores las herramientas necesarias para reducir al mínimo posible el uso de agrotóxicos en las explotaciones hortícolas.

Capítulo 4

Factibilidad de uso de *Pseudapanteles dignus* en liberaciones aumentativas para el control de *T. absoluta*.

4.1 Introducción

Los enemigos naturales (EN) constituyen una causa de mortalidad natural para las plagas agrícolas, proveyendo en muchos casos un servicio ecológico que opera a gran escala y de alto valor económico para la producción de alimentos (Constanza et al. 1997; Daily et al. 1997). Su impacto sobre las plagas depende, entre otros aspectos, de la densidad en que se encuentran dentro de los cultivos, la cual varía considerablemente dependiendo de diferentes factores bióticos y abióticos, como así también del manejo que realiza el productor (Altieri & Nicholls, 2000). Esto hace que a menudo estos enemigos no proporcionen un control suficiente para bajar la abundancia de la plaga por debajo del nivel de daño económico (NDE), siendo necesario la aplicación de técnicas de manejo que complementen al control natural, entre las que se encuentra el Control Biológico Aumentativo (CBA) (Jacas & Urbaneja, 2008).

El CBA (ver Capítulo 1) es una estrategia utilizada en varios países del mundo, que se basa esencialmente en la realización de sueltas *inundativas* o *inoculativas* de EN ya establecidos en el agro-ecosistema, con el objetivo de aumentar su abundancia en el cultivo y reforzar de esta manera su capacidad natural de control sobre las plagas (van Lenteren & Bueno, 2003; van Lenteren, 2012a).

Los primeros registros de la aplicación de esta estrategia datan de los siglos XVIII y XIX en el continente europeo, siendo dirigidos sobre todo al control de áfidos

(Homoptera) mediante liberaciones aumentativas de crisopas (Neuroptera: Chrysopidae) (Luck & Forster, 2003), sírfidos (Diptera: Syrphidae) (van Lenteren, 2007) y coccinélidos (Coleoptera: Coccinellidae) (Pilkington et al. 2010). El primer éxito reportado de esta estrategia tuvo lugar también en Europa, en la década de 1920, basándose en sueltas inoculativas del parasitoide *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) para el control de la “mosca blanca” *T. vaporariorum* (Westwood) en invernáculos (Speyer, 1927).

Desde el comienzo de la Segunda Guerra Mundial, el CB en general y en particular el CBA, fueron interrumpidos por varios años debido al auge de los plaguicidas sintéticos. Fue recién a partir de 1970, a causa de la aparición de resistencia a los plaguicidas en la mayoría de los insectos perjudiciales, que el interés por el mismo volvió a surgir (Pilkington et al. 2010). Desde entonces, el CBA tuvo un desarrollo creciente en Europa, como por ejemplo en Almería, España, donde más del 75% de las 8000 hectáreas cultivadas de pimiento se encontraban bajo este tipo de manejo entre los años 2007 y 2008 (Van der Blom et al. 2008).

Del mismo modo, en otras regiones del mundo se han registrado resultados positivos de esta estrategia de control (van Lenteren, 2012a). En Hawaii, Wong et al. (1991) evaluaron la eficacia del parasitoide *Diachasmimorpha tryoni* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) para el control de la “mosca de la fruta” *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), observando aumentos significativos del parasitismo en las zonas de liberación. Asimismo, Burns et al. (1996) y Sivinski (1996), reportaron en Florida (USA) una reducción sustancial en la abundancia promedio de la plaga *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae) en aquellas áreas en donde la avispa *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) había sido liberada mediante sueltas aumentativas.

Para Latinoamérica, estas tecnologías comenzaron a desarrollarse hace más de 20 años, sobre todo en invernaderos de Brasil, Colombia, México y Perú (van Lenteren & Bueno, 2003). Investigaciones realizadas por De Vis (2001) sobre cultivos de tomate bajo cubierta de Bogotá (Colombia), mostraron porcentajes de parasitismo iguales o superiores al 80% cuando adultos de *E. formosa* fueron liberados semanalmente con

densidades de 3-5 parasitoides/m² para el control de *T. vaporariorum*, mientras que Montoya et al. (2000) lograron una supresión del 70% sobre poblaciones de la plaga *Anastrepha spp.* en huertos de mango de Chiapas (México), tras realizar liberaciones aumentativas del parasitoide *D. longicaudata* durante 35 semanas. Resultados similares fueron obtenidos por Silveira et al. (2004) en el control de los “trips de las flores” *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *F. schultzei* (Trybom) y *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) por el depredador nativo *Orius insidiosus* Say (Heteroptera: Anthocoridae), denominada “chinche pirata”, mediante liberaciones inoculativas en invernáculos de crisantemo en Brasil.

En la Argentina, también se han realizado ensayos preliminares de sueltas inoculativas de EN en cultivos bajo cubierta. Entre ellos, de *O. insidiosus* para el control de las plagas *F. occidentalis*, *B. tabaci*, y los pulgones *Myzus persicae* (Sulzer) y *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphidae) en pimiento (Polack et al. 2008); y de los parasitoides *E. formosa* y *Eretmocerus corni* Haldeman (Hymenoptera: Aphelinidae) para el control de *B. tabaci* en pimiento, tomate y cucurbitáceas (Botto, 1999; Cáceres, 2004). Actualmente, existen varios grupos de investigación (INTA, Universidades, CONICET, etc.) dedicados a la búsqueda y evaluación de la efectividad de especies nativas de enemigos naturales para ser usados en el CB mediante diferentes técnicas.

La selección de candidatos como agentes de control biológico requiere de estudios previos acerca de distintos atributos biológicos y ecológicos de los mismos (Skovgard, 2002; Nasreen et al. 2011). Particularmente, para los parasitoides algunos de los criterios de selección propuestos consideran: 1- una sincronización estacional con su hospedador, 2- la compatibilidad fisiológica con el hospedador, 3- su adaptabilidad climática, 4- la especificidad con su hospedador, 5- una tasa de ataque (a') similar o mayor que la tasa de incremento poblacional del hospedador (r_0), 6- la capacidad de ser criados en masa con relativa facilidad, entre otros (van Lenteren, 2003). Algunas especies consideradas *a priori* promisorias son evaluadas en base a estos criterios, de modo de reducir el número a una o unas pocas que potencialmente aseguren su aplicación.

Una vez seleccionado un agente de control, el éxito de un programa de CBA dependerá además de otros factores, tales como encontrar un método económicamente viable de cría en masa y obtener individuos de buena calidad y de fácil transporte. Igualmente, es necesaria una correcta evaluación de la eficacia y tasas de liberación a campo, para lo cual deben considerarse posibles efectos de **interferencia mutua** entre los individuos liberados, puesto que este fenómeno es común dentro de los parasitoides (van Driesche, 2007; Aragón et al. 2008).

Como se ha mencionado previamente en este trabajo de tesis, *T. absoluta* es una plaga clave del cultivo de tomate en la región del Cinturón Hortícola Platense (CHP) y es considerada una de las más importantes de este cultivo en la Argentina, en otros países de América del Sur y en las nuevas áreas invadidas (Capítulo 2).

El uso intensivo de plaguicidas de síntesis utilizado en América para el control de esta plaga genera numerosos efectos negativos sobre el ambiente y el hombre (ver Capítulo 1). De allí surge la necesidad de buscar técnicas de control alternativas que aseguren un manejo eficaz de *T. absoluta* y que a la vez reduzcan el riesgo social y ambiental.

En este sentido, si bien a nivel mundial se están llevando a cabo pruebas de CBA de *T. absoluta* en invernáculos basadas principalmente en la utilización de parasitoides Trichogrammátidos y depredadores hemípteros (Giustolin et al. 2001; Torres et al. 2002; Parra & Zucchi, 2004; Faria et al. 2008; de Medeiros et al. 2009; Mollá et al. 2010; EPPO, 2012; Cabello et al. 2012; Urbaneja et al. 2012) y del parasitoide larval *Apanteles gelechiidivoris* Marsh (Hymenoptera: Braconidae) (Wanumen Riaño, 2012), en la Argentina aún es muy restringido el uso de entomófagos para el manejo de esta plaga.

Dentro del complejo de EN de presencia espontánea que atacan a *T. absoluta*, en los predios hortícolas del CHP, el endoparasitoide larval *P. dignus* (Fig. 4.1) es el más abundante (ver Capítulos 1 - 3).



Figura 4.1. Hembra de *Pseudapanteles dignus*.

El Laboratorio de Ecología de Plagas y Control Biológico del CEPAVE (CCT-CONICET-UNLP), desde hace varios años, desarrolla investigaciones para evaluar posibles candidatos como agentes de control biológico de *T. absoluta* con la finalidad de reducir o prescindir del uso de plaguicidas en el cultivo de tomate.

Estas investigaciones, conducidas en el CHP, han aportado conocimientos sobre la interacción de la plaga con el endoparásitoide *P. dignus*. Pueden mencionarse los estudios sobre aspectos de su biología y ecología, tales como: su disposición espacial y la de la plaga, y el patrón de parasitismo en la planta de tomate (Sánchez et al. 2009), la interacción de *P. dignus* con el ectoparásitoide larval *D. phthorimaeae* (Luna et al. 2010), el impacto del parasitismo natural de *P. dignus* sobre *T. absoluta* (Nieves et al. 2015). En el laboratorio, se han estimado sus atributos vitales y el tipo de respuesta funcional cuando ataca larvas de *T. absoluta* (Luna et al. 2007), así como sus parámetros demográficos (Nieves et al. 2015) y las interacciones de competencia y de depredación intragremio con *D. phthorimaeae* (Savino et al. 2016).

En este capítulo se reporta la investigación referida a la factibilidad de uso de *P. dignus* en liberaciones aumentativas para el control de *T. absoluta*, a escala experimental.

Para ello, se propusieron como **objetivos específicos**, en primer lugar estimar la mortalidad (% de parasitismo) de la polilla mediante distintas tasas de liberaciones de *P. dignus*, en un cultivo de tomate bajo invernáculo ubicado en el CHP; y en segundo lugar, evaluar la capacidad búsqueda del hospedador y de vuelo de las hembras de *P. dignus*, en un invernáculo experimental.

4.2 Materiales y Métodos

4.2.1 Obtención del material entomológico

Las larvas de *T. absoluta* y las hembras de *P. dignus* utilizadas en esta experiencia fueron obtenidas a partir de crías experimentales establecidas en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L: O), siguiendo el protocolo de cría detallado en el Capítulo 2.

Se seleccionaron hojas de tomate con larvas de la polilla ya instaladas en galerías (estadios L2 y L3), y hembras adultas del parasitoide, de 48 h de edad, previamente apareadas y con experiencia de parasitación, y se colocaron, individualmente, en pastilleros plásticos (10 cm diámetro x 2 cm de alto) que se dispusieron dentro de contenedores con aislación térmica para evitar que la temperatura ambiental perjudicara el estado de los mismos.

4.2.2 Estimación de las tasas de liberación a semi-campo

El experimento fue realizado sobre cultivos de tomate (*S. lycopersicum*) de ciclo tardío bajo cubierta, en la Estación Experimental de Gorina-La Plata (Ministerio de Asuntos Agrarios, prov. de Buenos Aires), ubicada en el CHP (Fig. 4.2).

Se trabajó en un invernáculo de 280 m², con una capacidad de ~ 600 plantas de tomate, variedad Elpida, cultivadas bajo las prácticas comunes de la región pero sin la aplicación de insecticidas.

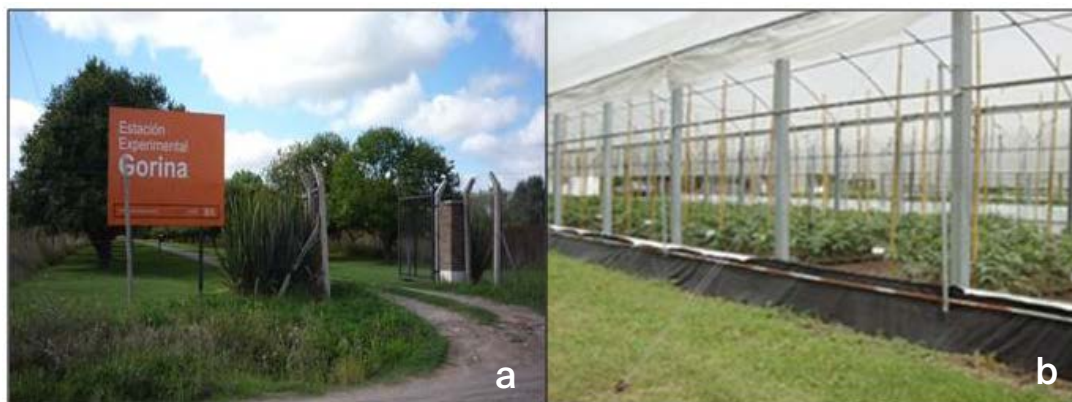


Figura 4.2. a- Acceso a la Estación Experimental de Gorina (CHP); b- Vista lateral de un invernáculo de tomate.

A lo largo de tres temporadas consecutivas (2013-2015), durante los meses de enero y febrero, se evaluó la tasa de liberación de hembras adultas de *P. dignus* mediante la técnica de suelta confinada en jaulas (Bellows & Fisher, 1999; van Lenteren & Manzaroli, 1999). En todos los casos la temperatura ambiente promedio rondó los 23 °C (<http://www.estadistica.lapлата.gov.ar/>).

El diseño del experimento fue de bloques al azar, con los siguientes factores: a) densidad del hospedador, b) densidad del parasitoide.

Cada bloque o unidad experimental consistió en una planta de tomate encerrada completamente por una jaula de *voile* blanco de 2 (alto) x 1,5 (ancho) x 1,5 (largo) m, suspendida del tutorado del cultivo (Fig. 4.3). Previo a la instalación del ensayo, se realizó una inspección minuciosa del estado sanitario del cultivo y las plantas se escogieron al azar.



Figura 4.3. Detalle de la jaula de *voile* encerrando una planta de tomate dentro del invernáculo.

Considerando el Umbral Económico (UE) que utiliza actualmente el INTA para el manejo de esta plaga, definido por Polack (2011) como 2 folíolos con daño fresco por planta, en este experimento se partió de una densidad mínima de 2 larvas de *T. absoluta*/planta.

Las densidades del hospedador ensayadas fueron de 2, 4 y 10 individuos/planta y del parasitoide de 1, 3 y 5 hembras adultas/planta, las que se combinaron de la siguiente manera: densidad relativa hospedador: parasitoide: 2:1; 4:1; 4:2; 10:3 y 10:5. Para la elección de estas combinaciones se tuvo en cuenta que la densidad del hospedador no superara en exceso al valor tolerado por el productor, y que la densidad del parasitoide permitiera evitar un posible fenómeno de interferencia mutua entre los mismos.

Cada tratamiento tuvo 15 réplicas y un control que consistió en plantas infestadas con larvas de *T. absoluta* según las densidades correspondientes y sin el parasitoide.

El experimento duró 4 días y se desarrolló de la siguiente manera:

- **Día 1:** se revisó cada planta seleccionada y se removió manualmente cualquier artrópodo presente. Cuando las plantas estuvieron completamente limpias se procedió a la colocación de las jaulas. Para la infestación manual de cada planta, las hojas de tomate con larvas de *T. absoluta* (estadios L2 o L3) se ubicaron, con la ayuda de cinta de papel adhesiva, sobre las plantas elegidas, según las densidades mencionadas previamente (Fig. 4.4).



Figura 4.4. Infestación de plantas con larvas de *T. absoluta*. Vista de la infestación manual a las 24 hs.

Día 2: Luego de comprobar la correcta instalación de las larvas en las minas, se liberaron las hembras adultas del parasitoide (Ghimire & Phillips, 2008) (Fig. 4.5). Dentro de cada jaula se colocaron algodones embebidos en agua y miel para la alimentación de las avispas.



Figura 4.5. Liberación de las hembras de *P. dignus*, mediante la utilización de un aspirador bucal, dentro de la jaula de voile conteniendo una planta de tomate

- **Día 4:** Luego de 48 h de haber sido liberadas las avispas se colectaron las hojas con signos de injuria de la polilla (Fig. 4.6), las cuales fueron colocadas dentro de bolsas tipo Ziploc® rotuladas con número de tratamiento y réplica, y llevadas al laboratorio del (CEPAVE) para su posterior acondicionamiento.



Figura 4.6. Fin del ensayo, retiro de la jaula y recolección de las hojas con signos de injuria de cada planta.

Una vez en el laboratorio, se prepararon las “unidades de cría”. Para ello, se colocaron las hojas con larvas de *T. absoluta* dentro de caja plásticas (10 cm diámetro x 2 cm de alto), con el peciolo sumergido en un tubo Eppendorf (2 ml) con agua, y sostenidas con masa para modelar tipo Plastilina no tóxica (Alba®) para evitar la pérdida del agua (Fig.4.7). Dichas unidades se mantuvieron en un bioterio con condiciones controladas (25 ± 2 °C, 70 ± 10 % HR y 14:10 L: O) hasta la obtención de pupas de la polilla o cocones de *P. dignus*. Las unidades fueron revisadas diariamente para registrar el número de hospedadores parasitados, mientras que aquellas larvas de *T. absoluta* que murieron durante el ensayo fueron disectadas bajo microscopio binocular (SMZ645, Nikon Corporation, Japón) para comprobar si se encontraban parasitadas.



Figura 4.7. Mantenimiento bajo condiciones controladas de las hojas de tomate infestadas con *T. absoluta* luego de su exposición al parasitismo por *P. dignus*, en un cultivo de tomate protegido. Vista de una unidad de cría.

A partir de la información obtenida se calculó el porcentaje de parasitismo por tratamiento, los cuales se compararon mediante un modelo lineal generalizado (GLM) de la familia binomial. La densidad 2:1 fue descartada del análisis por no haber presentado parasitismo.

En el modelo se tomó como categoría de referencia la densidad relativa 10:3 hospedador: parasitoide y se estimaron los parámetros del mismo:

$$\log\left(\frac{p}{1-p}\right) = \beta_0 + \beta_1 I_{10:5} + \beta_2 I_{4:1} + \beta_3 I_{4:2}$$

donde p=probabilidad de estar parasitado y p/ 1-p= odd.

4.2.3 Búsqueda del hospedador y capacidad de vuelo de *P. dignus*

Para llevar a cabo esta experiencia se instaló un invernáculo experimental (5 m x 4 m x 4 m alto x ancho x largo), cerrado y adecuadamente desinfectado. En el interior del mismo se distribuyeron plantas de tomate de ~1 m de altura en macetas individuales, entutoradas con una caña de plástico de manera similar a cómo se disponen en el cultivo (2 plantas por metro lineal, aprox. 40 plantas) e infestadas con 2 larvas de *T. absoluta* cada una (Fig. 4. 8).

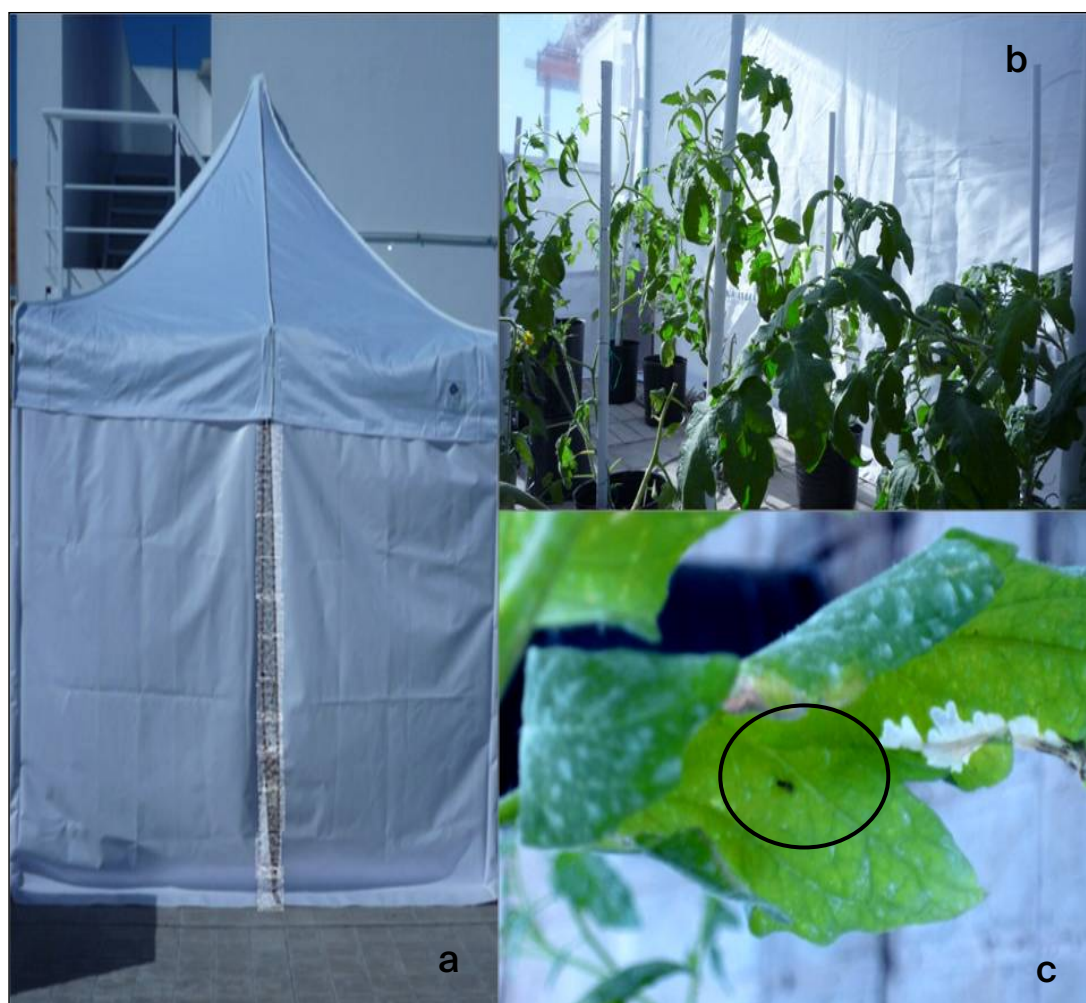


Figura.4.8. Ensayo de capacidad de vuelo y búsqueda de *P. dignus*; **a-** Invernáculo experimental (Gazebo 4 x 4m); **b-** Plantas de tomate en el interior del invernáculo; **c-** Hembra de *P. dignus* posada sobre una hoja de tomate infestada con *T. absoluta* (indicada por un círculo).

Posteriormente, en un punto central y prácticamente al ras del suelo, se liberó una hembra adulta de *P. dignus* (48 h de edad), recientemente apareada y se observó su comportamiento durante un período de 45 minutos, luego del cual fue recapturada para dar inicio a una nueva liberación/observación de otra hembra en las mismas condiciones. Cabe destacar que el presente ensayo se llevó a cabo bajo condiciones de temperatura ambiente similares a las del experimento anterior.

Durante la prueba, dos observadores vestidos completamente de negro se colocaron en las esquinas del invernáculo con binoculares y un cronómetro (Joop van Lenteren, com. pers.). De esta manera, sobre un plano previamente confeccionado (Ver

Anexo 1) en el que se indicaban el número de cada planta y la distancia entre ellas, fueron registrados los distintos movimientos de búsqueda del parasitoide, así como la duración de cada uno de ellos.

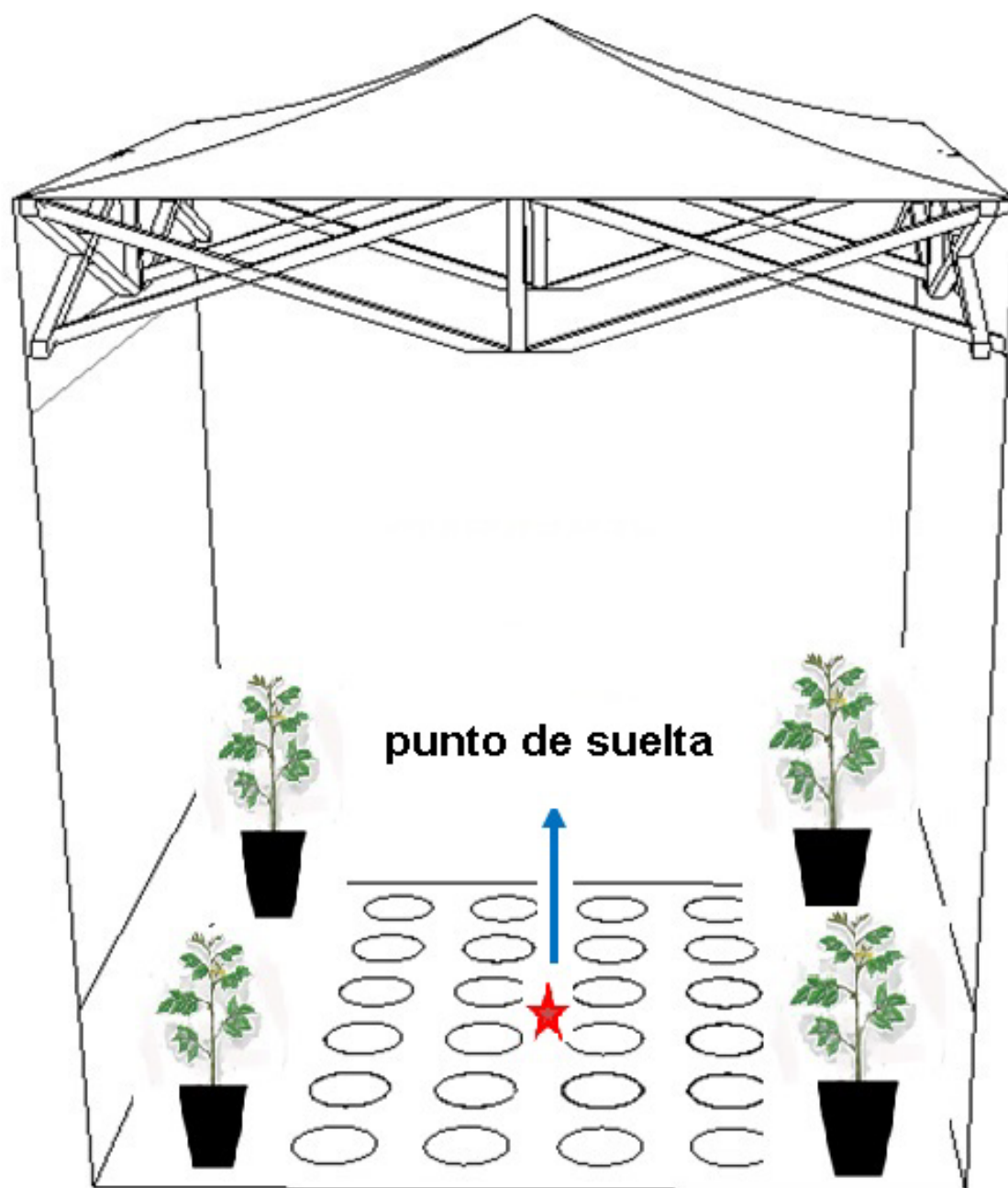


Figura 4.9. Esquema del invernáculo experimental con vista de 4 plantas (las restantes se indican con círculos). La estrella roja indica el punto de suelta de la hembra de *P. dignus*.

Para visualizar mejor el movimiento de las avispas, se consideró inicialmente marcarlas con un polvo fluorescente DayGlo® (Skovgard, 2002) (Fig. 4.10). Para ello, se colocaban las hembras adultas en una bolsa plástica con el polvo en la base y se sacudían suavemente para que se impregnaran de colorante. Aunque este método de tinción no afectó a la supervivencia y fertilidad de *P. dignus* (datos sin publicar), debió ser descartado a causa del tiempo dedicado al aseo por parte de las hembras durante el ensayo. Por tal motivo, las avispas fueron observadas sin teñir y con la ayuda de observadores.

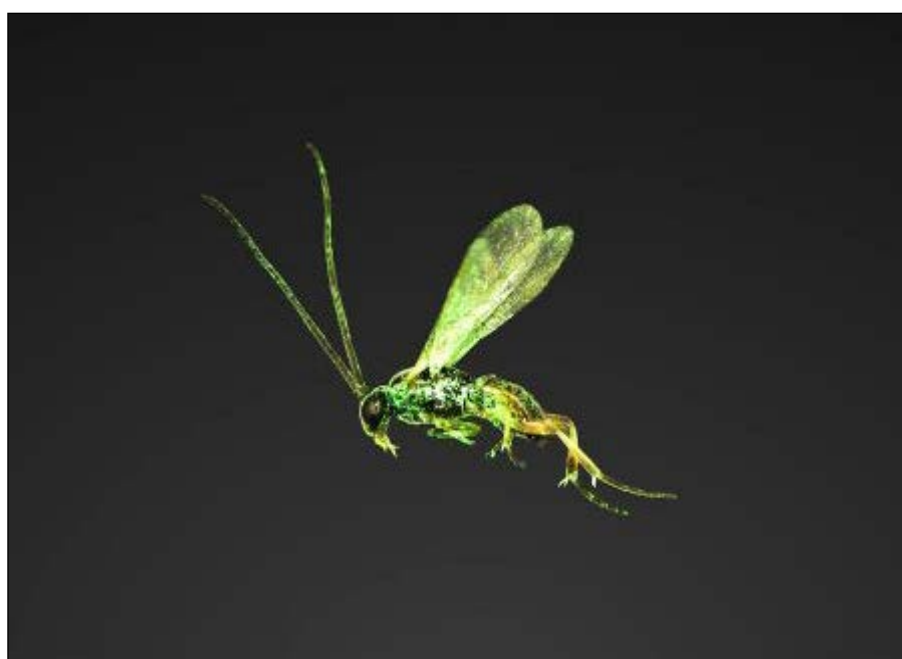


Figura 4.10. Hembra de *P. dignus* marcada con polvo fluorescente para su visualización en el invernáculo.

Se tuvieron en cuenta los siguientes comportamientos: 1) **vuelo**; 2) posarse sobre una hoja infestada o no infestada; 3) caminata rápida o **búsqueda general**; 4) caminata lenta o **búsqueda intensiva** y detención con movimientos de antenas; 5) movimientos de **sondeo con el ovipositor**; 6) **aseo**; 7) **reposo** o estado inmóvil y 8) **parasitismo** (Al-Wahaibi & Walker, 1999; 2000). El parasitismo se distinguió del comportamiento de sondeo por la típica contracción abdominal que realiza la hembra cuando deposita un huevo.

Para determinar la capacidad de vuelo las variables medidas fueron: a) el tiempo total de vuelo (TTV) directo o errante, en minutos; b) la trayectoria del desplazamiento (TD), en metros, y c) la distancia máxima desde el punto central de suelta. Esta prueba fue repetida 15 veces durante tres días en la misma franja horaria y en las mismas condiciones climáticas. De cada variable se calculó el promedio y el desvío estándar.

Luego de la exposición al parasitoide, aquellas larvas de *T. absoluta* en las que se observó parasitismo fueron retiradas y colocadas en cápsulas de plástico de (10 cm diámetro x 2 cm de alto) para completar su desarrollo y confirmar el mismo.

Las diferencias entre comportamientos fueron analizadas por una prueba de ANOVA de una vía, previa transformación de los datos a arcoseno.

4.3 Resultados

4.3.1 Estimación de las tasas de liberación a semi-campo

Las larvas de *T. absoluta* tuvieron una supervivencia mayor del 70 % durante el ensayo, una indicación de que las condiciones dentro de las jaulas en el invernáculo fueron las apropiadas para el desarrollo de este fitófago.

Las hembras de *P. dignus* no exhibieron parasitismo a la densidad de 2 larvas/planta, mientras que en las restantes densidades arrojaron valores entre un 23 y un 61 %, para un tiempo de exposición de 48h (Tabla 4.1). El mayor porcentaje de parasitismo se observó en la densidad relativa (hospedador: parasitoide) 10:3.

Tabla 4.1. Porcentaje de larvas de *T. absoluta* parasitadas por *P. dignus* en ensayos de suelta confinada de avispa adultas, expuestas a la avispa por 48 h.

Densidad relativa Ta:Pd	% de parasitismo (\pm ES)
2:1	0
4:1	35 \pm 5
4:2	23 \pm 5
10:3	61 \pm 8
10:5	47 \pm 4

Las chances (odd) de parasitismo a las densidades 10:5; 4:1 y 4:2 fueron significativamente menores que a la densidad 10:3, y representaron una disminución del 42, 65 y 80% respectivamente, con respecto a la 10:3 (tabla 4.2).

Las chances de parasitismo a la densidad 10:5 difirieron significativamente de las chances a la densidad 4:2 disminuyendo en un 200% a esta última densidad. La densidad 10:5 respecto a la 4:1 y la 4:1 respecto a la 4:2 no difirieron significativamente.

Tabla 4.2. Chances de parasitismo.

	Estimador	Estimación	IC 95% LI *	IC 95% LS *	significancia
OR (10:5/10:3)	$e\beta_1$	0,58	0,368	0,921	*
OR (4:1/10:3)	$e\beta_2$	0,35	0,187	0,651	*
OR (4:2/10:3)	$e\beta_3$	0,20	0,100	0,390	*
OR (10:5/4:1)	$e\beta_1, \beta_2$	1,67	0,773	3,602	ns
OR (10:5/4:2)	$e\beta_1, \beta_3$	2,95	1,272	6,856	*
OR (4:1/4:2)	$e\beta_2, \beta_3$	1,77	0,656	4,772	ns

*Se considera diferencia significativa cuando el intervalo de confianza no incluye el 1.

4.3.2 Búsqueda del hospedador y capacidad de vuelo de *P. dignus*

Todas las hembras liberadas mostraron actividad durante los 45 minutos que duró la observación. El 20% de las hembras liberadas se posaron en hojas con larvas de *T. absoluta* en el tiempo que transcurrió el experimento, mientras que el 80% restante lo hizo sobre las paredes o el techo del invernáculo. El promedio del TTV fue de $8,73 \pm 1,18$ min (media \pm ES) y la TD de $6,70 \pm 0,52$ m (media \pm ES). La distancia máxima desde el punto central de suelta observada fue de 10 metros (Fig. 4.11).

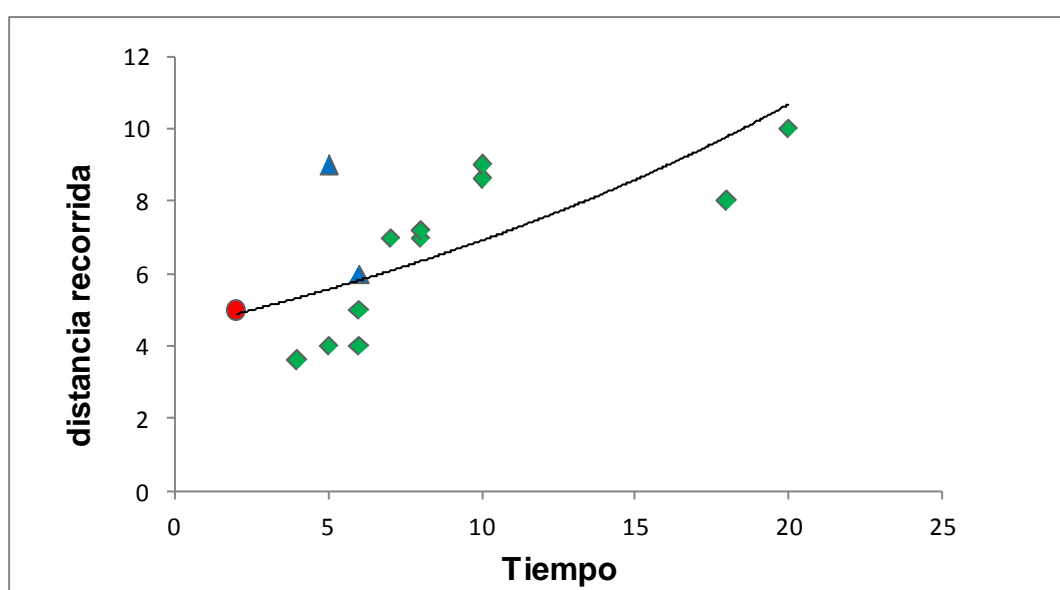


Figura. 4.11. Distancia recorrida por la hembra de *P. dignus* por unidad de tiempo (metros/minuto). Indicado con un triángulo azul aquellas hembras que se posaron sobre hojas de tomate y con un punto rojo la hembra que efectuó parasitismo.

Todas las avispas exhibieron los comportamientos de vuelo, caminata rápida o búsqueda general y reposo o actividad de descanso (Fig. 4.12). En menor medida se dedicaron a la caminata lenta y el aseo, mientras que las actividades relacionadas directamente con el parasitismo fueron realizadas sólo en una de las 15 hembras observadas (Ver Anexo 2).

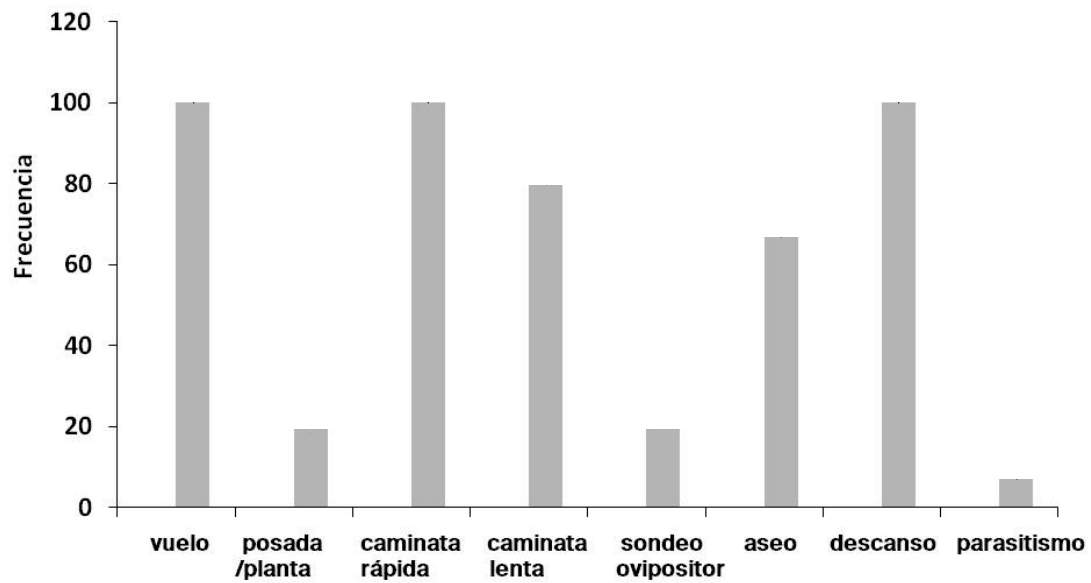


Figura.4.12. Frecuencia de los distintos comportamientos observados en las hembras de *P. dignus* liberadas.

El tiempo dedicado a cada comportamiento a lo largo de los 45 minutos de observación mostró diferencias significativas (ANOVA; $F_{(7, 112)} = 28,59$; $p=0,001$). El descanso exhibió la mayor duración, seguido por la caminata rápida y el vuelo. El parasitismo fue el comportamiento de menor duración. La única hembra que parasitó, invirtió, a diferencia del promedio, el mayor tiempo en caminata lenta (Fig. 4.13).

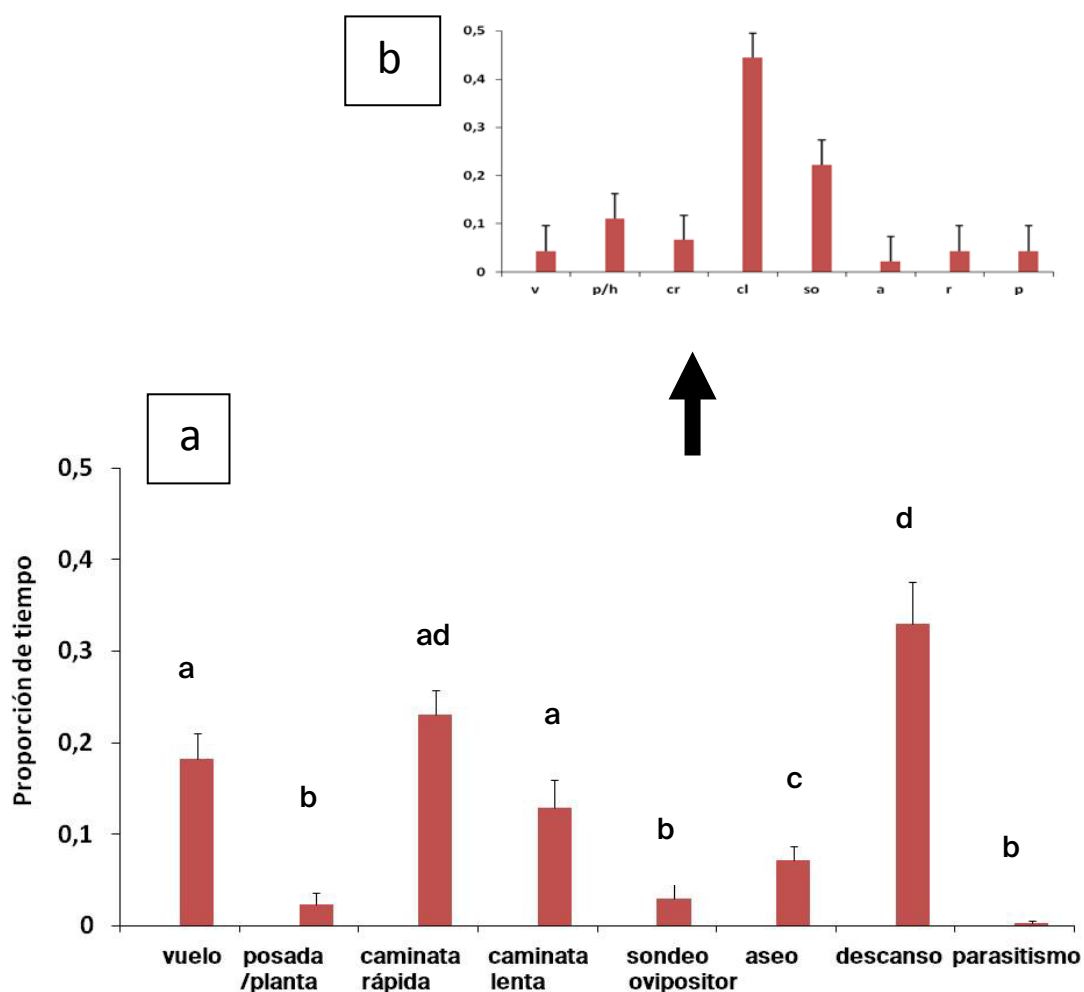
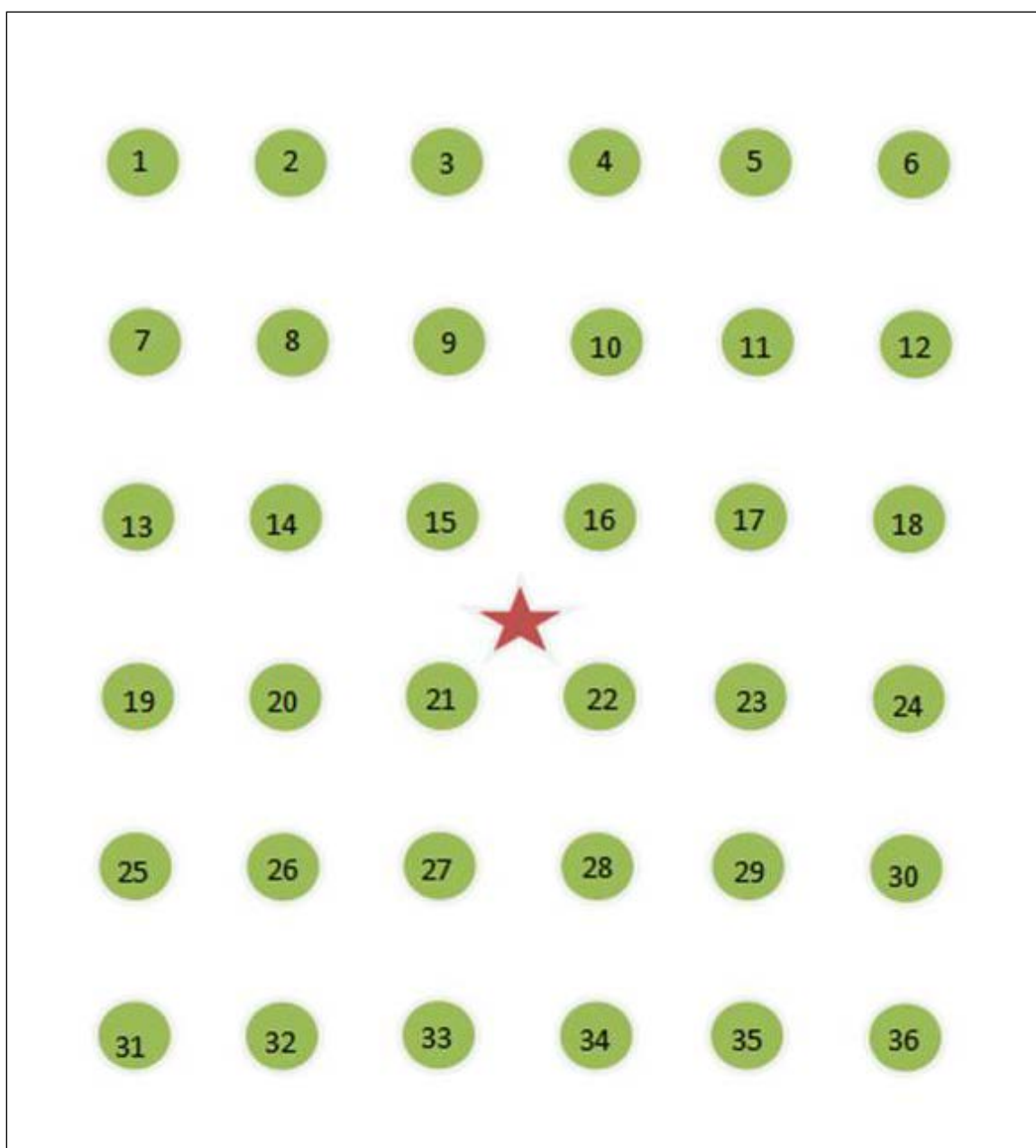


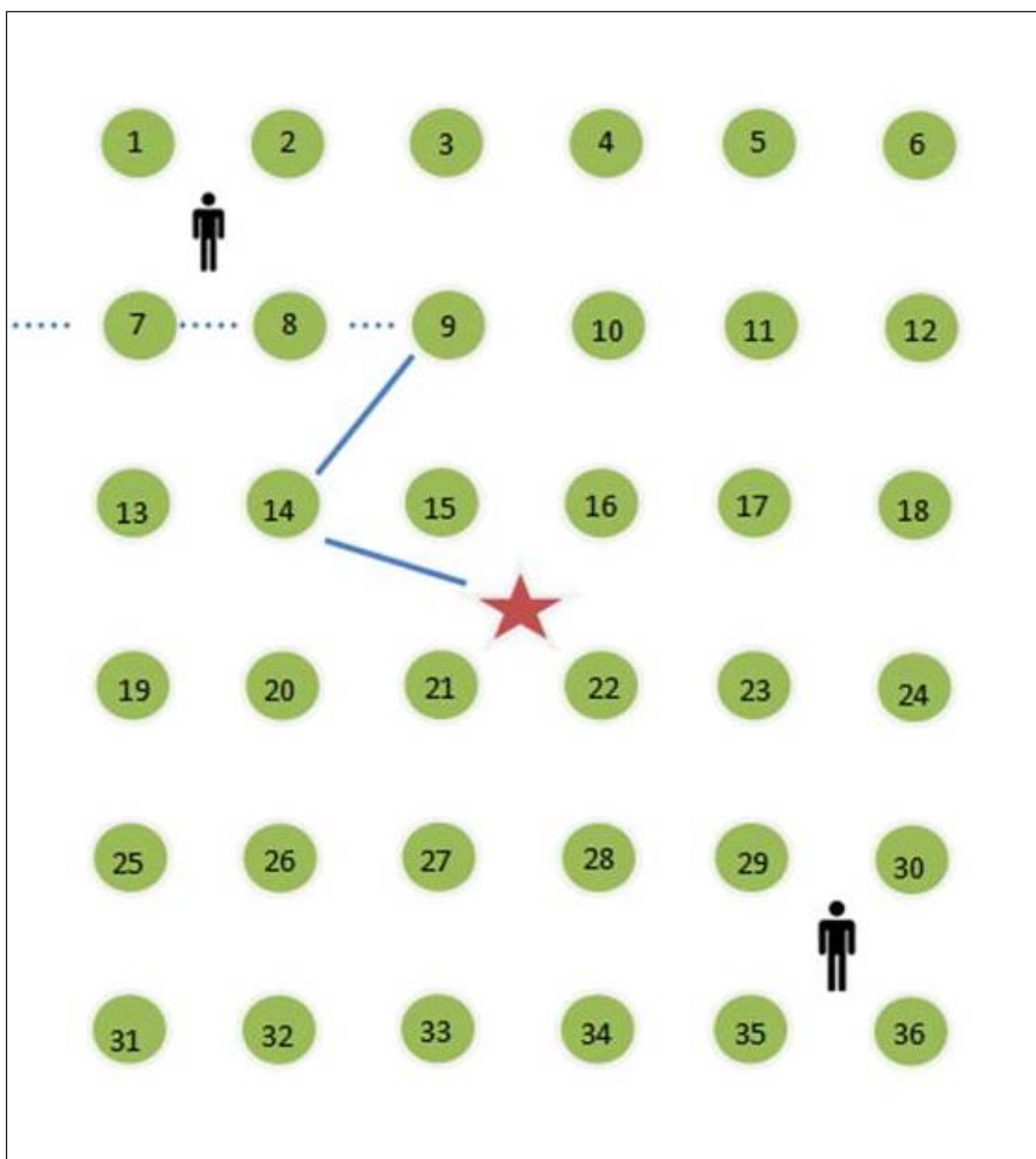
Figura.4.13. **a-** Proporción de tiempo (Media \pm ES) que la hembra de *P. dignus* invirtió en diferentes actividades comportamentales durante 45 minutos de observación; **b-** Detalle del comportamiento de la hembra que parasitó.

Anexo

1-Capacidad de vuelo y búsqueda del hospedador: Plano del invernáculo experimental.



2-Capacidad de vuelo y búsqueda del hospedador: Trayectoria de hembra que parasitó.



4.4 Discusión

La presente investigación avanzó en el conocimientos sobre la manipulación del parasitoide larval *P. dignus* como agente de CB de *T. absoluta* en cultivos de tomate bajo invernáculo.

Los resultados obtenidos mostraron que a una densidad de 10 hospedadores por planta, la liberación de 3 hembras del parasitoide produjo porcentajes de parasitismo más altos (61%) que la liberación a una tasa mayor (5 individuos hembra de *P. dignus*). Esta disminución en el control de la polilla a densidades del parasitoide mayores de 3 hembras, podría deberse a un fenómeno de interferencia mutua por parte de las avispas en la unidad experimental, lo cual generaría una autolimitación en la población del parasitoide, reduciendo su tasa de parasitismo.

El fenómeno de interferencia mutua, es decir la reducción en la tasa de consumo por parasitoide a medida que aumenta la presencia de conespecíficos, cuando el hospedador no está limitado, podría deberse, entre otros aspectos, a una mayor tasa de emigración de los manchones con hospedadores debido a que las hembras se molestan unas a otras, lo cual reduce su eficiencia de búsqueda. Algunos autores consideran que este aspecto del comportamiento de oviposición tiene un efecto potencialmente estabilizador en la dinámica de la interacción parasitoide-hospedador (Hassell & Varley, 1969; Hassel 2000).

La interferencia entre hembras adultas de parasitoides ha sido reportada para otros agentes de biocontrol. Por ejemplo, Hoddle et al. (1998) observaron en el control de la mosca blanca *T. vaporariorum* por *E. formosa*, que cuando la avispa se encontraba en densidades muy altas presentaba un nivel moderado de interferencia mutua. Asimismo, Van Alphen & Jervis (1996) señalaron que *E. formosa* a densidades bajas presenta una interferencia insignificante. Resultados similares fueron reportados entre las hembras del parasitoide *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitando al pulgón *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae) (Pandey et al. 1986, Shukla et al. 1997).

En el caso del parasitoide *P. dignus*, por consiguiente, existiría un límite en el número de avispas que se podrían liberar. No sería recomendable utilizar densidades por encima de 3 hembras adultas por planta, incluso para altas densidades de la plaga como serían 10 larvas por planta, ya que no se logra aumentar el parasitismo, lo cual a su vez implicaría un mayor costo y esfuerzo de aplicación de esta técnica. Este último aspecto ha sido señalado como un aspecto fundamental a ser considerado para una cría masiva y programas de liberación de un agente de control biológico (Fathipour et al. 2006).

Pese a que la literatura propone liberar un número constante de avispas por unidad de área sin tener en cuenta la densidad de la plaga (Hoddle et al. 1997; Hoddle, 2000), el tipo de estudio llevado a cabo en este capítulo permite un uso más racional de los parasitoides, ajustando las tasas de liberación y evitando gastos innecesarios para el productor.

Por otra parte, si bien los porcentajes de parasitismo obtenidos en este estudio mostraron valores elevados, difirieron considerablemente respecto a los registrados para otros parasitoides nativos utilizados en el control de *Tuta absoluta* a nivel mundial, siendo menores a los reportados por Cabello et al. (2012) en España y Parra & Zucchi (2004) en Brasil para Trichogrammátidos parasitoides de huevo y por Aguilar et al. (2010) y Wanumen Riaño, (2012) para el parasitoide larval *Apanteles gelechiidivoris* en Colombia, en tanto que fueron superiores a los registrados por Faria et al. (2008) y de Medeiros et al. (2009) para *T. pretiosum* en invernáculos de tomate de Brasil.

Otro aspecto a destacar de este estudio es que a más bajas densidades del hospedador, como serían 4 larvas por planta, la tasa de ataque, resultó significativamente menor, incluso a una densidad relativa de 2 hospedadores por avispa (4:2). Esto, sumado al hecho de no haber registrado parasitismo a la densidad de 2 larvas por planta, podría sugerir que la eficiencia de búsqueda de este parasitoide disminuye a bajas densidades del hospedador. Este resultado es coincidente con el reportado por Petit et al. (2008) para el mimárido *Gonatocerus ashmeadi* en liberaciones para controlar a la chicharrita *Homalodisca vitripennis* en Tahiti.

La teoría establece que los parasitoides usan estímulos que perciben a distinta escala espacial, con el fin de localizar y parasitar a sus hospedadores con éxito. Estos estímulos pueden categorizarse como de largo alcance (p. ej. infoquímicos) para localizar los hábitats adecuados, y de corto alcance (p. ej. excrementos del hospedador) de los que se valen cuando ya están en el hábitat adecuado (Doutt, 1959; van Driesche et al. 2007; Wajnberg et al. 2008). Por lo tanto, a densidades bajas del hospedador, podrían dar lugar a una disminución de la localización y a un bajo parasitismo, y por tanto una reducción de la eficiencia de los mismos en el control (Esch et al. 2005).

El estudio de las distintas actividades comportamentales es un requisito importante que ayuda a la selección de agentes del CB, y a la evaluación de los mismos luego de su liberación (Luck et al. 1999, Wajnberg et al. 2008).

La única hembra que ovipuso en el tiempo de observación de 45 min, dedicó una parte sustancial del tiempo al comportamiento de caminata lenta sobre las hojas. Esta conducta podría haber incrementado las chances de encontrar a la larva minadora del hospedador. Interesantemente, Savino et al. (2016) en un estudio realizado sobre la interacción de *P. dignus* con otro EN de *T. absoluta*, el ectoparasitoide larval *D. phthorimaeae*, observaron que la hembra del primero dedicó la mayor parte del tiempo a la caminata lenta sobre las hojas o búsqueda intensiva cuando estaba sola, modificando este comportamiento cuando estuvo en presencia de una hembra heterospecífica. Moratorio (1990) reportó que el comportamiento de caminata lenta y movimiento de antenas juega un papel muy importante en la búsqueda del hospedador y orientación de la hembra en un estudio realizado sobre los parasitoides de huevos *Anagrus mutans* Walker y *A. silwoodensis* (Hymenoptera: Mymaridae) atacando a huevos de *Cicadella viridis* (L.) (Homoptera: Cicadellidae).

El hecho de que sólo una de las 15 hembras parasitó durante el tiempo de observación, sugiere que éstas necesitan un mayor tiempo, luego de la liberación, para lograr un parasitismo efectivo.

Los resultados de esta investigación contribuyen a profundizar el conocimiento acerca de *P. dignus*, uno de los parasitoides más importantes de la “polilla del tomate” *T. absoluta*, sentando las bases para su empleo en el CB de esta plaga en Argentina.

Capítulo 5

Desempeño de *Pseudapanteles dignus* como enemigo natural de *Tuta absoluta* en berenjena

5.1 Introducción

La polilla del tomate, *T. absoluta*, es un geléquido oligófago que utiliza a varias especies de solanáceas como plantas hospederas, entre ellas la berenjena *Solanum melongena* L., donde logra completar su desarrollo y reproducción (Galarza, 1984; Estay, 2000; Pereyra & Sánchez, 2006; Zappalà et al. 2013; Bawin et al. 2015).

Como resultado de las investigaciones descritas en el Capítulo 3, se determinó que *T. absoluta* alcanza niveles poblacionales altos en cultivos de berenjena bajo invernáculo del CHP, y que ésta a su vez es atacada por un importante complejo de EN, entre ellos, la avispa parasitoide *P. dignus*.

En nuestro país se ha reportado una gran diversidad de insectos plaga asociados al cultivo de berenjena, entre ellos, trips, pulgones, mosca blanca, arañuela roja, insectos enrolladores de hoja y barrenadores (del Pino et al. 2012). Sin embargo, una búsqueda exhaustiva de información sobre el estatus de plaga de *T. absoluta* en *S. melongena* no arrojó resultados concretos. En la Argentina, el ataque de *T. absoluta* sobre berenjena se restringe, en general, a aquellos cultivos colindantes con cultivos de tomate, sin alcanzar hasta el momento, una importancia económica significativa (datos sin publicar).

Informes técnicos de Europa y EEUU han señalado que *T. absoluta* tiene como segundo cultivo de preferencia, luego del de tomate, a la berenjena (Speranza et al. 2009; Tropea Garzia, 2009; Viggiani et al. 2009; Gabarra et al. 2014; www.russellipm-agriculture.com; USDA, 2011).

Tras la detección inicial de *T. absoluta* sobre cultivos de tomate en España, en el año 2006 (Urbaneja et al. 2007), la polilla fue detectada en el 2008 sobre cultivos de berenjena del sur de Italia, alcanzando rápidamente elevados niveles poblacionales. Unos años más tarde, en África, Mohamed et al. (2012) reportaron severas pérdidas de rendimiento causadas por *T. absoluta* en cultivos de berenjena a cielo abierto de Khartoum (Sudán), mientras que El Arnaouty & Kortam (2012) registraron la asociación *T. absoluta*-*Nesidiocoris tenuis*, ya reportada para el cultivo de tomate, en plantaciones de berenjena de Guiza, Caliubia y Fayúm (Egipto).

Durante la investigación presentada en el Capítulo 3, se determinó que *P. dignus* establece una interacción persistente con *T. absoluta* en berenjena, algo similar a la registrada en tomate por Nieves et al. (2015) para todo el ciclo tardío en el CHP (diciembre a abril), exhibiendo las típicas oscilaciones huésped-parasitoide. Por lo tanto, cabe la posibilidad de pensar en el CB de *T. absoluta* con este EN en cultivos de tomate y berenjena bajo invernáculo.

El cultivo de berenjena, se ubica en orden de importancia por debajo de otras solanáceas como el tomate *S. lycopersicum*, el pimiento *C. annuum* y la papa *S. tuberosum*. Su origen se sitúa en el viejo mundo, siendo utilizada como alimento desde hace más de 4.000 años en la India y en países del sudeste asiático (Vavilov, 1951). Durante la Edad Media fue introducida en España en manos de los árabes (Daunay, 2008) y desde allí se propagó al resto de Europa, ingresando posteriormente al continente americano con los conquistadores (Mangione & Sánchez, 1999).

Es una planta herbácea, perenne, que suele cultivarse como anual en zonas de clima templado (Mangione & Sánchez, 1999). Presenta un sistema radicular muy profundo, tallos con crecimiento determinado que pueden alcanzar más de 2 m de altura,

grandes hojas pubescentes, y flores de color violáceo. Su fruto es una baya alargada-globosa, de color negro, morado, blanco, o jaspeado, según la variedad (www.infoagro.com) (Fig.5.1). Desde el punto de vista nutricional, es valorada por su contenido en fibra, ácido fólico, ácido ascórbico, vitamina K, vitamina B6, ácido pantoténico, potasio, hierro, magnesio, manganeso, fósforo y cobre (USDA 2011).



Figura 5.1. *Solanum melongena*, **a**-flor de la berenjena; **b**- Detalle de frutos en plantas var. Barcelona F1, utilizada comercialmente en predios del Cinturón Hortícola Platense; **c**- Frutos de distintas variedades; **d**- cultivo comercial.

En la actualidad, el 94% de la producción mundial de berenjena se concentra en el continente asiático. Durante el año 2012, la superficie sembrada fue de 1.853.000 ha alcanzando una producción de 48.424.295 ton. China es el principal país productor, con más de 33 millones de ton anuales, seguido por Indonesia, Egipto, Turquía, Iraq y Filipinas (FAO, 2014; Sujayanand et al. 2015). Según datos de la Comunidad Económica Europea (CEE), el consumo de berenjenas en Europa está creciendo a un ritmo acelerado,

principalmente en países como Italia en donde es intensamente cultivada. Del mismo modo en Estados Unidos y Canadá su producción se halla en un continuo ascenso, si bien aún es inferior respecto a otras solanáceas cultivadas (Mangione & Sánchez, 1999; www.horticulturablog.com).

En la Argentina, las principales provincias productoras son: Buenos Aires, Salta, Santa Fe y Jujuy. El cultivo se realiza mayormente en túnel o invernadero y la producción se destina al mercado interno para su consumo en fresco (www.mercadocentral.gob.ar). En la provincia de Buenos Aires, el cultivo de berenjena abarca una superficie de 146 ha, de las cuales 31 corresponden al partido de La Plata (Defensor del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires, 2015). En el CHP, al NE de la provincia de Buenos Aires, Argentina, su producción bajo invernáculo ha aumentado de manera considerable durante los últimos años (Strassera, 2009; del Pino et al. 2012; García, 2012).

En Asia, región de origen de la berenjena, los intentos por controlar al complejo de plagas que ataca a este cultivo conlleva un uso excesivo de pesticidas (Srinivasan, 2009). Actualmente se están investigando alternativas de control tales como el CB por medio de enemigos naturales y su posible incorporación en programas de manejo (Srinivasan et al. 2008; Rim et al. 2015; Sujayanand et al. 2015).

Como se ha mencionado previamente, en lo que respecta al éxito de programas de CB de plagas agrícolas, los insectos parasitoides reportan las tasas de establecimiento y control efectivo más altos (Bellows & Van Driesche, 1999; van Lenteren 2005, 2012b). Por lo tanto, el estudio de la biología y ecología de aquellos potencialmente útiles resulta relevante. En este sentido, atributos tales como el tiempo de desarrollo, longevidad y fecundidad de la hembra, respuesta funcional y tasa de ataque han sido propuestos como rasgos fundamentales a la hora de evaluar a un agente de control biológico (Holling, 1959; Shipp & Whitfield, 1991; Yang et al. 2012; Shah & Khan, 2013).

En particular, la respuesta funcional describe un aspecto muy importante del comportamiento de los EN. En el caso de un parasitoide ésta describe la relación entre el número de hospedadores atacados por un individuo del mismo y la densidad de

hospedadores disponibles, en un espacio y un tiempo definidos (Solomon, 1949). Según Holling (1959) existen tres tipos de respuesta (Figs. 5.2; 5.3 y 5.4), las cuales producen diferentes efectos sobre la dinámica poblacional del hospedador. En la respuesta de **Tipo I** el número de hospedadores atacados aumenta linealmente con el incremento de la densidad del hospedador hasta alcanzar un punto máximo a partir del cual permanece constante (Fig. 5.2a). La pendiente de esta recta es la tasa de ataque (a'), es decir, la proporción de hospedadores atacados por unidad de tiempo, la cual es constante hasta que la recta alcanza el valor máximo y a partir de entonces comienza a decrecer (Fig. 5.2b). Este tipo de respuesta es densoindependiente, indicando que la tasa de ataque no varía con la densidad del hospedador.

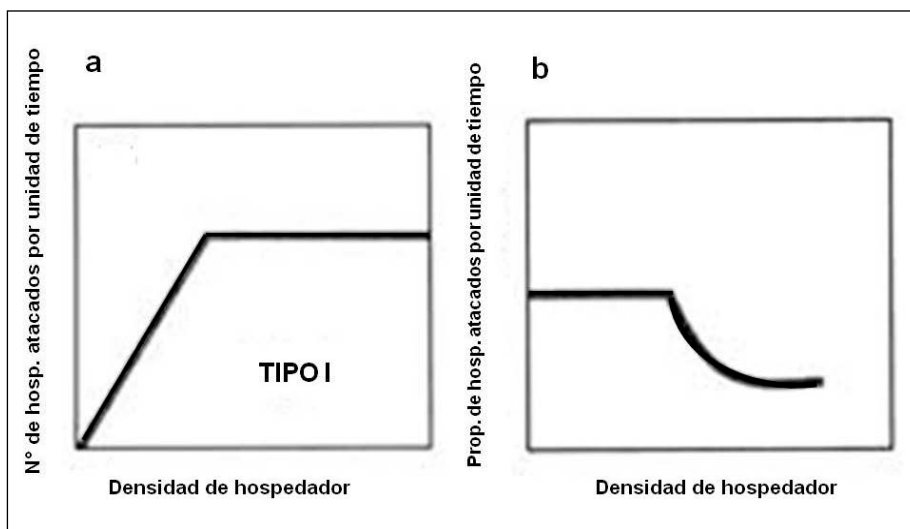


Figura 5.2. Respuesta funcional de Tipo I según Holling (1959), adaptado de Juliano (2001).

En la respuesta de **Tipo II** el número de hospedadores atacados aumenta en forma curvilínea con la densidad del hospedador hasta alcanzar una asíntota (Fig. 5.3a). La tasa de ataque se desacelera gradualmente hasta hacerse prácticamente constante a altas densidades del hospedador (Fig. 5.3b). En este tipo de respuesta aparece un nuevo parámetro denominado tiempo de manipuleo (T_m), el cual se define como el tiempo dedicado para perseguir, dominar y atacar a un hospedador. En este caso, dado que el tiempo de búsqueda se reduce a causa del tiempo del manipuleo, T_m largos conducen a bajas (a') y viceversa (Hassell, 2000). El parasitismo resultante es densodependiente inverso, lo que significa que densidades más altas del hospedador tendrán menor tasa de ataque.

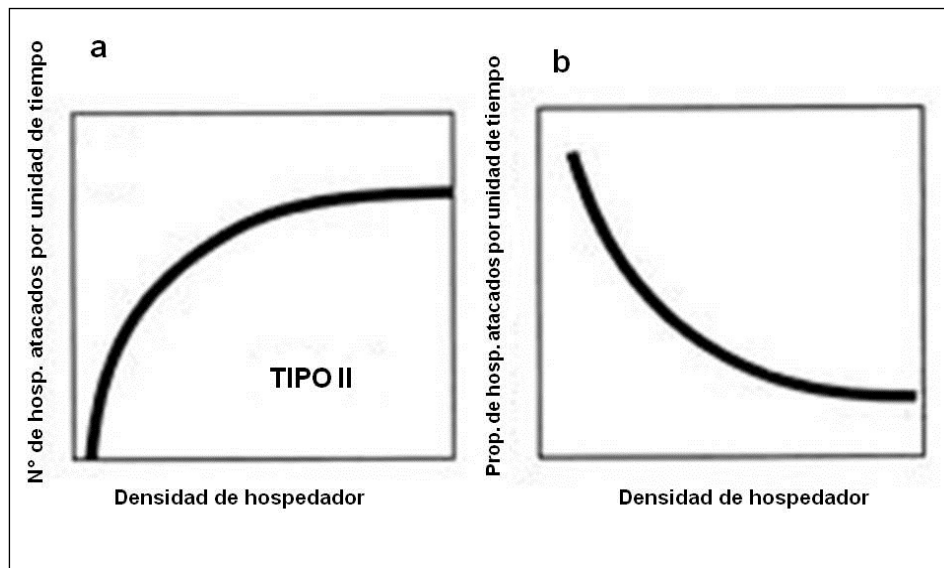


Figura 5.3. Respuesta funcional de Tipo II según Holling (1959), adaptado de Juliano (2001).

Por último, en la respuesta funcional de **Tipo III** el número de hospedadores atacados por unidad de tiempo aumenta con la densidad del hospedador hasta alcanzar una asíntota describiendo una curva sigmoidea (Fig. 5.4a). La tasa de ataque a baja densidad del hospedador se acelera debido a que el parasitoide es más eficiente en su búsqueda o tiene un menor tiempo de manipuleo (mortalidad densodependiente directa). A partir del punto de inflexión de la curva, a altas densidades del hospedador, el T_m comienza a limitar el ataque (densodependencia inversa) y tiene un efecto similar a la respuesta de Tipo II (Fig. 5.4b).

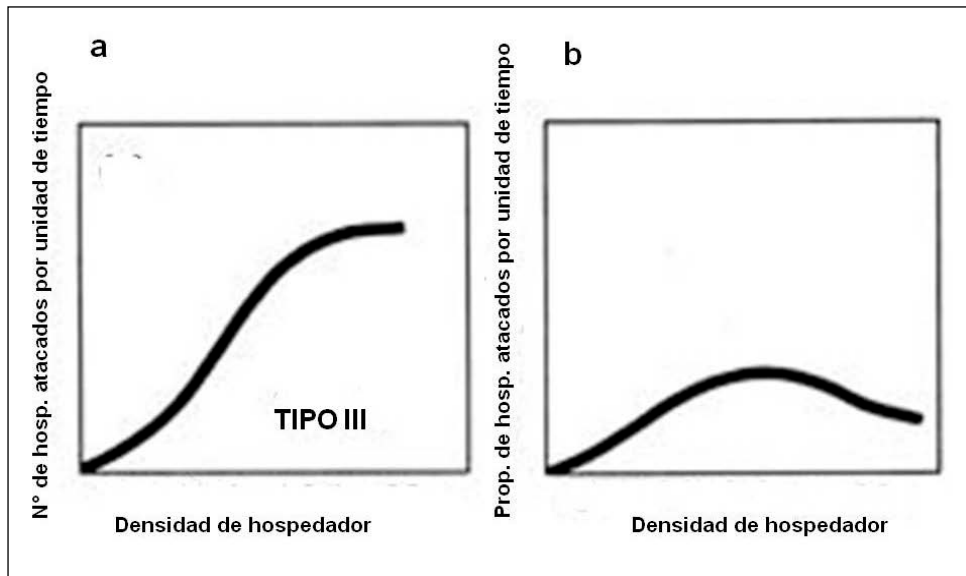


Figura 5.4. Respuesta funcional de Tipo III según Holling (1959), adaptado de Juliano (2001).

De acuerdo a Holling (1959) la respuesta Tipo II es típica de invertebrados depredadores y parasitoides, y la de Tipo III de vertebrados depredadores con capacidad de aprendizaje y de cambio de presa. La respuesta Tipo II es frecuentemente observada en el laboratorio para insectos entomófagos y este autor la atribuye a la existencia de un tiempo mínimo de manipuleo que es necesario gastar para parasitar a cada hospedador encontrado.

En la investigación llevada a cabo para esta Tesis, se ha registrado durante todo el año la presencia de *T. absoluta* sobre cultivos de berenjena en predios del CHP (ver Capítulo 3) (Fig.5.5), no obstante se ignora el potencial de *P. dignus* para el control de *T. absoluta* en esta solanácea.

Teniendo en cuenta la creciente importancia económica de este cultivo para la región, se decidió comenzar a estudiar aspectos relacionados a la biología y ecología de *P. dignus* cuando parasita a larvas de *T. absoluta* sobre plantas de berenjena.



Figura 5.5. Cultivo de berenjena del Cinturón Hortícola Platense con daño de *T. absoluta*.

El objetivo general de esta investigación fue determinar la potencialidad de *P. dignus*, en condiciones de laboratorio, para limitar el crecimiento de *T. absoluta* en el cultivo de berenjena.

Para ello, se propusieron como **objetivos específicos**, en primer lugar determinar diferentes atributos biológicos de *P. dignus* sobre plantas de berenjena, en condiciones de laboratorio, tales como el tiempo de desarrollo, longevidad y fecundidad de la hembra; y en segundo lugar, definir el tipo de respuesta funcional de *P. dignus* y la tasa de ataque de *P.dignus*.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Plantas e Insectos usados en los experimentos

Las plantas de berenjena utilizadas en los experimentos fueron compradas a una plantinera comercial y cultivadas en el invernáculo experimental del CEPAVE (var. barcelona FI). Los plantines fueron trasplantados dentro de macetas plásticas de 3 litros, con turba y perlita y fertilizadas cada 15 días con Nitrofoska foliar PS (COMPO®) (1,5 mg). Para mantenerlas libres de pesticidas y sin el ataque de herbívoros, se las colocó dentro de jaulas de *voile* BIOQUIP® (35 x 35 x 60 cm) hasta alcanzar una altura aproximada de 20 cm (Fig. 5.6).

Los individuos de *T. absoluta* y de *P. dignus* provinieron de las crías experimentales establecidas en el CEPAVE, bajo condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperiodo, ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 60–70% HR, 14:10 L: O) (Luna et al. 2007; Nieves, 2013), cuyos protocolos fueron descritos en el Capítulo 2.



Figura 5.6. Invernáculo experimental del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores-CEPAVE (CONICET-UNLP). **a-** Vista general de las distintas especies de plantas cultivadas en el centro, **b-** Detalle de jaula de *voile*, **c-** Plantas de berenjena.

5.2.2 Atributos biológicos de *P. dignus* sobre berenjena, en condiciones de laboratorio

Tiempo de desarrollo pre-imaginal y longevidad del adulto

La unidad experimental utilizada en este ensayo consistía en un frasco de plástico (5 litros) (Fig. 5.7), en cuyo interior era colocada una planta de berenjena (~20 cm de alto)

previamente infestada, de forma manual, con 20 larvas de *T. absoluta* (L3) y una avispa hembra (< 72 h), copulada. Cada unidad era provista con una traza de miel en la parte superior para alimentación de la avispa y cerrada con un rectángulo de *voile* a modo de tapa.

Luego de 24 h, la hembra del parasitoide era retirada de la unidad y las larvas de *T. absoluta* mantenidas dentro de la misma. Las unidades eran revisadas diariamente para registrar la mortalidad de larvas hospederas, la formación de pupas de la polilla (es decir, larvas no parasitadas), o de cocones de *P. dignus* y provistas cada 72 h de nuevas plantas de berenjena para la alimentación de las larvas. Cada unidad experimental fue replicada 12 veces.



Figura 5.7. Vista de las unidades experimentales, conteniendo cada una, una planta de berenjena atacada por larvas de *T. absoluta* y una hembra adulta de *P. dignus*.

Una vez obtenidos los cocones de *P. dignus* (Fig. 5.8), los mismos eran retirados de las unidades y dispuestos de manera individual en pastilleros de acrílico de 10 cm de diámetro, rotulados con fecha y número de réplica, en tanto que los adultos emergidos de estos cocones eran sexados y mantenidos en dichos pastilleros, provistos de miel (*ad libitum*) para su alimentación.



Figura. 5.8. Detalle de un cocón de *Pseudapanteles dignus* sobre una planta de berenjena.

Se estimó el tiempo de desarrollo de huevo a pupa y de pupa a adulto de los ejemplares de *P. dignus* obtenidos en este ensayo (F1), contabilizando el número de días desde la fecha de exposición de las larvas de *T. absoluta* a la avispa, hasta la formación del cocón, y de éste a la emergencia del imago.

Para estimar la longevidad de los adultos de *P. dignus* se realizó un ensayo en unidades experimentales como las anteriormente descritas (5 litros) (Fig. 5.7). Dado que la longevidad de la hembra de un parasitoide está determinada, entre otros factores, por la disponibilidad de hospedadores a lo largo de su vida (Quicke, 1997), para medirla en *P. dignus*, se les proveyó de un grupo de larvas de *T. absoluta*, miel y agua *ad libitum* mientras vivieron. En el caso de los machos se les proveyó sólo de miel y agua. Los individuos de ambos sexos fueron controlados hasta su muerte.

La comparación del tiempo de desarrollo de los diferentes estados entre sexos se realizó mediante test de “t” de Student, con valor de significancia de $p < 0,05$.

Fecundidad

Los adultos recién emergidos de la colonia mantenida en el bioterio, fueron sexados y colocados dentro de recipientes de acrílico (500 ml), denominadas “cámaras de cópula”, con suministro de miel y agua para la observación del apareamiento (Fig. 5.9).



Figura 5.9. Cámara de cópula de *Pseudapanteles dignus*.

Las hembras copuladas eran retiradas de la cámara y colocadas individualmente, en una unidad experimental de 5 litros (Fig 5.7) ($n = 10$) donde diariamente se les ofrecía una planta de berenjena con aproximadamente 15 larvas de *T. absoluta* para la oviposición, hasta la muerte de la avispa parasitoide. Las larvas eran retiradas cada día de

la unidad experimental y acondicionadas dentro de bandejas plásticas o “unidades de cría” de 500 ml provistas de papel filtro y hojas de berenjena para alimentación de las mismas. Las unidades de cría se colocaron dentro de bolsas tipo Ziploc® y fueron revisadas cada 48 h. hasta la obtención de las pupas de *T. absoluta* o de los cocones de *P. dignus*.

En este experimento se pudo estimar: 1) la fecundidad de *P. dignus* en base al número promedio de cocones formados por hembra; 2) el período reproductivo, es decir el número promedio de días que la hembra parasitó; 3) la tasa diaria de parasitismo, calculada como el número promedio de hospedadores parasitados por día; y 4) la proporción de sexos de los adultos emergidos, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Proporción de } \text{♀} = \frac{\text{número de } \text{♀} \text{ emergidas}}{\text{número de } \text{♀} + \text{♂} \text{ emergidos}}$$

Respuesta funcional

Este ensayo consistió en ofrecer a hembras adultas de *P. dignus*, de manera individual, una densidad determinada de larvas de *T. absoluta*, previamente instaladas en las plantas de berenjena, para calcular la tasa de parasitismo en función de la densidad de hospedadores ofrecidos. La preparación del experimento comenzó con la selección de las hembras del parasitoide (< 72 h) de las cámaras de cópula (Fig. 5.9) y la colocación de cada una de ellas en una unidad experimental formada por un contenedor de plástico de 5 litros, cubierto con una tapa de *voile* y provista de miel y agua (*ad libitum*) como alimento, del mismo modo que se ha explicado previamente (Fig. 5.10).

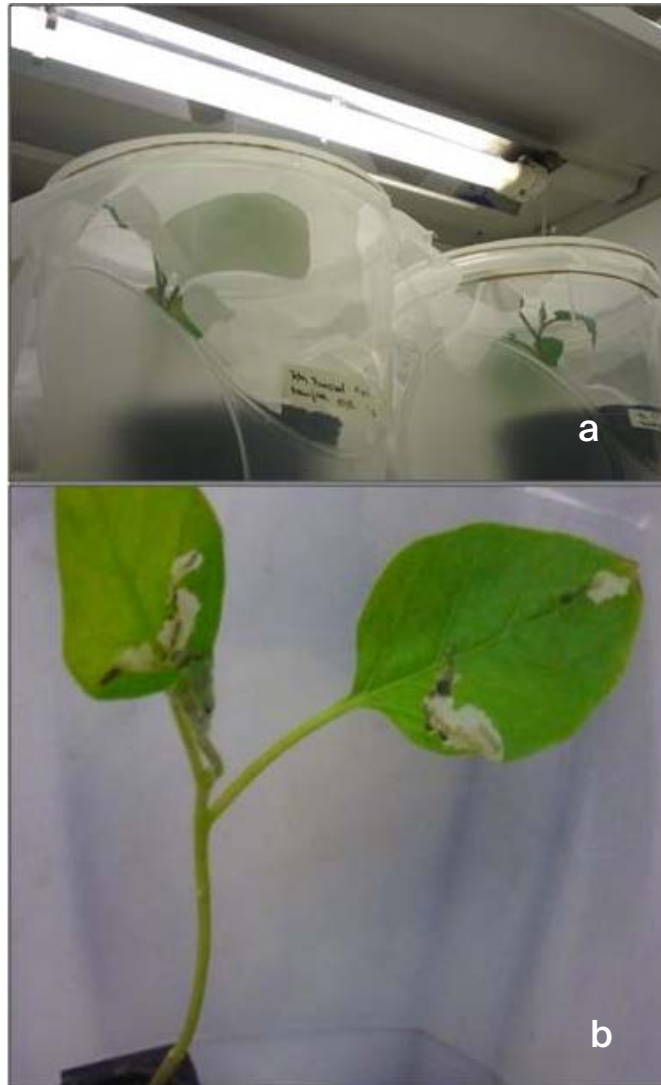


Figura 5.10. Ensayo para evaluar el tipo de respuesta funcional de la hembra de *P. dignus* cuando ataca larvas de *T. absoluta* en plantas de berenjena. **a**-Unidad experimental, **b**-Detalle de larvas en galerías sobre plantines de berenjena.

Las densidades del hospedador ensayadas fueron 3, 7, 10, 15, 20, y 25 larvas de los estadios L2 y L3, ya que si bien *P. dignus* puede atacar a todos los estadios de *T. absoluta*, exhibe un mejor desempeño a estadios tempranos de este hospedador (Nieves, 2013). Se realizaron 10 réplicas para cada densidad. El valor máximo de densidad utilizado fue determinado según estudios previos sobre la tasa de ataque de este parasitoide en tomate (Luna et al. 2007), y considerando las tasas de crecimiento poblacional de esta especie (Nieves et al. 2015).

Transcurridas 24 h desde el inicio del ensayo, las hembras fueron removidas de la unidad experimental y las larvas de *T. absoluta* sometidas al ataque (N_o) se criaron para registrar, diariamente, el número de parasitadas (N_p). Esta información se obtuvo en base al número de cocones de *P. dignus* formados, verificando de este modo el parasitismo efectivo.

Con los datos obtenidos se calculó el número (N_p) y la proporción de hospedadores parasitados (N_p/N_o) por *P. dignus* para cada densidad de *T. absoluta* ofrecida (N_o).

Considerando que la variable dependiente (hospedador parasitado o no parasitado) es de tipo binario, la regresión logística se consideró adecuada para examinar la relación entre la variable dependiente y la variable independiente (número de hospedadores ofrecidos) (Fernández Arhex & Corley, 2004; Luna et al. 2007; Romero Sueldo et al. 2010; Xu et al. 2014). La forma de la curva de respuesta funcional se determinó entonces ajustando una regresión logística entre la proporción de hospedadores parasitados (N_p/N_o) y la densidad de hospedadores ofrecida (N_o) (Juliano, 2001).

Se comenzó con el ajuste de los datos a la siguiente ecuación cúbica:

$$N_p/N_o = \exp (P_0 + P_1N_o + P_2N_o^2 + P_3N_o^3) / \quad (5.1)$$

$$1 + \exp (P_0 + P_1N_o + P_2N_o^2 + P_3N_o^3)$$

donde P_0 , P_1 , P_2 y P_3 representan la intercepción y los coeficientes lineal, cuadrático y cúbico, respectivamente.

Si el ajuste a una expresión cúbica resulta significativo indicará un buen ajuste a una respuesta funcional de Tipo III, en caso contrario se continúa con el ajuste a una expresión cuadrática. En esta última, la significancia y el valor del coeficiente lineal y el

cuadrático nos permiten identificar el tipo de respuesta, de la siguiente manera: si P_1 y P_2 no son significativamente distintos de 0, la respuesta es de Tipo I; si P_1 es significativo y negativo, la respuesta es de Tipo II; si P_1 y P_2 son significativos, positivo y negativo respectivamente, la respuesta es de Tipo III. El coeficiente P_0 (intercepto) es la ordenada en el origen y no brinda información relevante (Juliano, 2001).

Finalmente, si la ecuación cuadrática no resulta significativa se realiza el ajuste de los datos a un modelo más simple, usando una ecuación lineal, donde el valor de P_1 igual, menor o mayor que cero indican una respuesta de tipo I, II o III, respectivamente.

La significancia de los coeficientes se estimó mediante el método de máxima verosimilitud utilizando el programa estadístico R (R Development Core Team 2014).

Complementariamente, se realizó un test de independencia de chi-cuadrado, donde se compararon N_p / N_0 y N_0 , para cada densidad. Para ello, se consideró como H_0 que la proporción de larvas de *T. absoluta* parasitadas es independiente del número de larvas disponibles. El nivel de significancia del test fue $p < 0,05$ y se utilizó el programa R.

Luego de determinar el tipo de respuesta funcional se procedió al cálculo de la eficiencia de búsqueda o tasa de ataque (a'), es decir la proporción de hospedadores parasitados por unidad de tiempo. Este parámetro fue estimado mediante una regresión lineal (Statistica Statsoft, 2007), utilizando la siguiente fórmula:

$$N_p = a' T N_0 \quad (5.2)$$

donde: T es el tiempo en que los hospedadores son expuestos al parasitoide (24 h).

5.3 Resultados

Tiempo de desarrollo pre-imaginal y longevidad del adulto de *P. dignus*

El tiempo de desarrollo de los estadios pre-imaginales de *P. dignus* evaluado sobre la planta de berenjena, fue de 15, 12 y 27 d, para los períodos huevo-pupa, pupa-adulto y huevo- adulto, respectivamente. No existieron diferencias entre machos y hembras (HUEVO-PUPA: $t= 0,09$; g.l.=148, $p= 0,92$; PUPA-ADULTO: $t= 0,02$; g.l.= 148, $p= 0,98$; HUEVO-ADULTO: $t= 0,08$; g.l.= 148, $p= 0,93$). La longevidad del adulto varió entre 23 y 24 d y tampoco se observaron diferencias entre ambos sexos ($t= 1,18$; g.l.= 48, $p= 0,24$) (Tabla 5.1).

Tabla 5.1. Atributos de la historia de vida de *P. dignus*: Tiempo de desarrollo \pm ES (días) de los estadios pre-imaginales de *P. dignus* y longevidad del adulto (días) parasitando a *T. absoluta* sobre plantas de berenjena, en condiciones de laboratorio ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ HR, 14:10 [L:O] h).

Atributos	n	Hembras	n	Machos	*
Tiempo de desarrollo	64		86		
<i>Huevo-Pupa</i>		15,56 \pm 0,30		15,38 \pm 0,25	ns
<i>Pupa-Adulto</i>		12,33 \pm 0,23		12,32 \pm 0,19	ns
<i>Huevo-Adulto</i>		27,83 \pm 0,37		27,51 \pm 0,35	ns
Longevidad	32	24,81 \pm 1,51	18	23,33 \pm 2,58	ns

ns: diferencias no significativas al $p < 0,05$.

Fecundidad

Las hembras no exhibieron periodo pre-reproductivo, comenzando la oviposición inmediatamente después de la emergencia. El período reproductivo promedio duró $18,5 \pm 0,5$ d, con una tasa diaria de parasitismo de $3,41 \pm 0,73$ hospedadores parasitados por día. La fecundidad de la hembra de *P. dignus*, es decir, el número promedio de cocones formados por hembra durante toda su vida fue de $61,3 \pm 5,23$. Finalmente la proporción de sexos fue de 0,7, con un sesgo hacia las hembras.

Cabe mencionar que en este estudio no se observó mortalidad de las hembras durante los primeros 10 días de vida, período en que las mismas presentaron los valores de parasitismo más altos.

Respuesta Funcional

El número de larvas de *T. absoluta* parasitadas por *P. dignus* incrementó con la densidad de larvas ofrecidas (Fig. 5.11 a), mientras que la proporción de parasitadas fue altamente variable e independiente de la densidad de larvas de *T. absoluta* ofrecidas (Chi-cuadrado= 10,12; g.l.= 5, p= 0,07) (Fig. 5.11b).

El número de larvas de *T. absoluta* parasitadas por *P. dignus* varió entre 1 y 10, para el rango de densidades del hospedador testeadas (Fig. 5.11 a), siendo el número máximo de larvas parasitadas en 24 h de 10, para una densidad de 25 larvas de *T. absoluta*.

Los resultados de la regresión logística indicaron una respuesta funcional de Tipo I, ya que todos los coeficientes de la expresión cúbica y los coeficientes P_1 y P_2 de la expresión cuadrática, resultaron no significativos (Tabla 5. 2).

Tabla 5.2. Resultado de los análisis de regresión logística de la proporción de larvas de *T. absoluta* parasitadas por *P. dignus* en relación al número inicial de hospedadores ofrecidos.

Parámetro	Estimador	Error estándar	Wald	p
Expresión cúbica				
Intercepto	-1,07	0,89	-1,2	0,23
N_0	-0,08	0,22	-0,39	0,69
N_0^2	0,007	0,015	0,45	0,65
N_0^3	-0,0001	0,0003	-0,45	0,65
Expresión cuadrática				
Intercepto	-1,41	0,5	-2,8	0,0005
N_0	0,007	0,07	0,10	0,92
N_0^2	0,00007	0,002	0,03	0,97

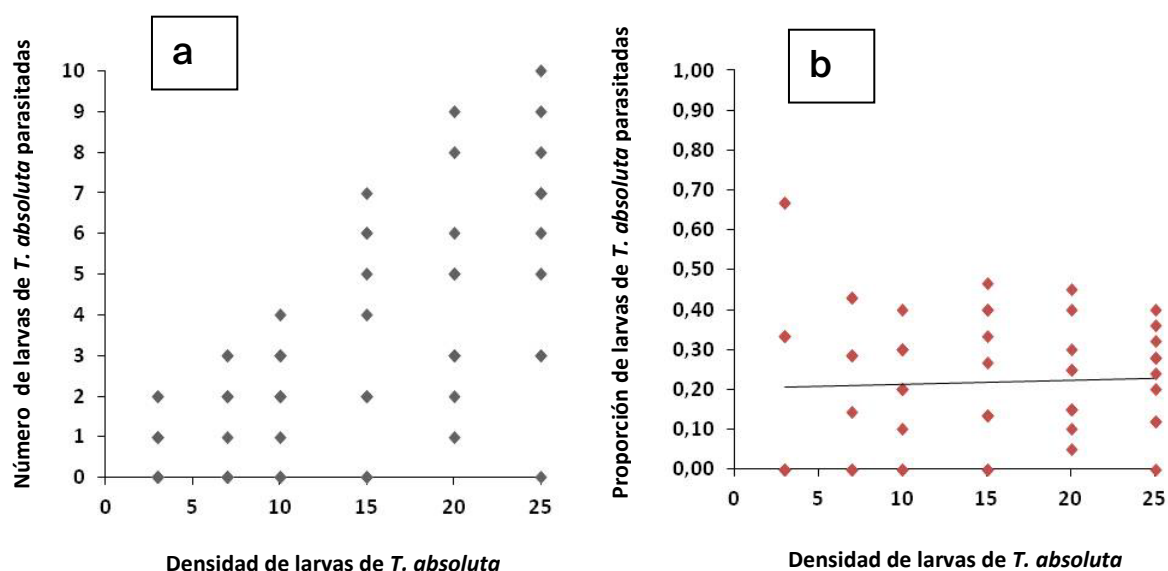


Figura 5.11. **a-** Número de larvas de *T. absoluta* parasitadas; **b-** Proporción de larvas de *T. absoluta* parasitadas por *P. dignus*.

Teniendo en cuenta que la respuesta funcional fue de Tipo I, la eficiencia de búsqueda o tasa de ataque (**a'**) se calculó utilizando la fórmula (5.2) presentada en la metodología. Los parámetros de esta ecuación fueron: $y = 0,22 + 0,24 x$; $r^2 = 0,44$; $F=46,35$; $df=1, 58$; $p < 0,001$, indicando que la tasa de ataque fue igual a 0,24 hospedadores parasitados en 24 h.

5.4 Discusión

Este trabajo de Tesis reporta por primera vez algunos atributos biológicos y reproductivos del endoparásitoide larval solitario *P. dignus*, cuando parasita a la polilla del tomate en la planta de berenjena, una hortaliza de creciente importancia económica para la región. La interacción *T. absoluta* - *P. dignus* fue registrada por primera vez también durante el transcurso de este trabajo en cultivos de berenjena bajo cubierta del CHP (NE de la prov. de Buenos Aires, Argentina) (ver Capítulo 3). Este hallazgo motivó esta investigación, con el fin de evaluar su potencial como agente de control de la polilla en este cultivo.

En relación al tiempo de desarrollo, este parasitoide requirió aproximadamente 28 días desde huevo a adulto cuando parasitó a larvas de *T. absoluta* atacando berenjena. Esto indica un desarrollo más lento (~5 días) que el estimado por Nieves et al. (2015) para la planta de tomate, en tanto que la longevidad de los adultos fue levemente menor en las hembras (~ 2 días) y similar en los machos, respecto a los valores registrados para este parasitoide atacando a larvas de *T. absoluta* en tomate.

El período reproductivo de *P. dignus* fue mayor que el observado sobre plantas de tomate (~ 4 días), en tanto que el número promedio de cocones formado por día y el número total de cocones por hembra fueron menores a los reportados por Nieves et al. (2015) para este parasitoide sobre plantas de tomate.

La proporción de sexos sesgada hacia las hembras hallada en este estudio es coincidente a la reportada por Luna et al. (2007) en tomate. Sin embargo, Cardona &

Oatman (1971) encontraron una proporción de sexos a favor de los machos para este parasitoide atacando a larvas de otro geleíquido, *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera: Gelechiidae), en condiciones de laboratorio.

El sesgo hacia las hembras en la proporción de sexos es considerada beneficiosa en los programas de control biológico, ya que son las hembras las que atacan a los hospedadores, ya sea mediante alimentación (*host-feeding*) u oviposición (Wajnberg et al. 2008). La cría masiva de parasitoides para su uso en el CB mediante liberaciones aumentativas puede ser altamente ineficiente en colonias de especies de braconidos arrenotóquicos (Green et al. 1982; Luck et al. 1999; Dannon et al. 2010). Por consiguiente podría sugerirse que la mayor proporción de hembras en la descendencia de *P. dignus*, exhibida en tomate y berenjena, es una característica ventajosa para la cría masiva de este parasitoide.

El patrón de parasitismo en relación a la densidad de hospedadores exhibido en berenjena fue independiente de la densidad del hospedador y coincidió con el de tomate (Luna et al. 2007) bajo las mismas condiciones de temperatura, humedad relativa y fotoperíodo. Por otra parte, las tasas de ataque también fueron similares en estas dos solanáceas, correspondiendo a un 22 y 24% de las larvas de *T. absoluta* ofrecidas en 24 h, respectivamente, así como también el número máximo de hospedadores parasitados por día. Estos resultados sugieren que *P. dignus* tendría un comportamiento de parasitismo semejante en ambas solanáceas.

Varios autores, basados en las predicciones de modelos teóricos, han señalado que la respuesta funcional de Tipo I como la exhibida por *P. dignus*, al ser densoindependiente produciría inestabilidad en la interacción hospedador - parasitoide (Hassell & May, 1973, 1974). Sin embargo, estudios posteriores mostraron que este tipo de respuesta, si fuera acompañada con una variación suficiente en el riesgo de parasitismo entre los individuos de la población del hospedador, podría derivar en una interacción estable y persistente (Walde & Murdoch, 1988; Pacala & Hassell, 1991). Sánchez et al. (2009) reportaron un comportamiento de agregación de este parasitoide en hojas con mayores densidades del hospedador, lo que indicaría que los individuos del

hospedador en los manchones más densos estarían sujetos a un mayor riesgo de parasitismo.

Estos resultados, sumado a la persistencia de la interacción observada a campo, tanto en tomate (Nieves et al. 2015) como en berenjena (Salas Gervassio et al. 2016b), permitirían concluir la potencialidad de este parasitoide para establecer una interacción estable y persistente con su hospedador.

La respuesta funcional es sólo uno de los atributos a ser considerados en el éxito de un programa de control biológico ya que varios otros atributos ecológicos tales como: las tasas de crecimiento intrínsecas, la respuesta de agregación, las interacciones de comportamiento entre las especies, así como la complejidad del entorno actuando juntos pueden contribuir a estabilizar las poblaciones naturales (Fernández-Arhex & Corley, 2003).

Folcia (2013) determinó una respuesta funcional de Tipo II para *P. dignus* parasitando a larvas de *T. absoluta* sobre plantas de tomate. No obstante, según Van Alphen & Jervis, (1996), la respuesta funcional de un EN puede variar según el diseño experimental adoptado, por lo que estos resultados no pueden ser comparados con los del presente estudio ya que los ensayos fueron realizados a semi-campo y en condiciones de temperatura, humedad y fotoperíodo diferentes.

Las características biológicas y ecológicas estimadas sugieren que *P. dignus* funciona de manera similar cuando parasita a larvas de *T. absoluta* alimentándose de *S. melongena* y de *S. lycopersicum*, aunque con una fecundidad menor en la primera.

Resultados similares a los obtenidos en este estudio fueron reportados por Castro Chacón & López (2010) quienes evaluaron distintos atributos biológicos en condiciones de laboratorio del parasitoide *Eretmocerus mundus* para su aplicación en el control biológico aumentativo de la mosca blanca *Bemisia tabaci* sobre cultivos de pimiento y tomate.

Por otra parte, si bien la respuesta funcional describe un aspecto relevante del comportamiento de un EN y es ampliamente utilizada en la evaluación de los mismos como potenciales agentes de control, debido a que la misma es determinada en el laboratorio, debería ser complementada con el análisis de los patrones reales de parasitismo en condiciones naturales (Bellows & Fisher, 1999). En efecto, las condiciones naturales son mucho más complejas, por ejemplo la densidad de hospedadores, el tiempo de exposición de los hospedadores al parasitoide, así como por la complejidad temporal y espacial existente a una mayor escala (Hoddle et al. 1998), son factores que dificultan la extrapolación de lo que ocurre en el laboratorio a condiciones de campo.

Por consiguiente, estos aspectos deben ser contemplados en el contexto del biocontrol de *T. absoluta* sobre cultivos de berenjena en la Argentina.

Esta investigación contribuye a aportar conocimientos básicos para el CB de *T. absoluta* en cultivos de berenjena del CHP, sobre los cuales dicha plaga representa un riesgo potencial. Además, aumenta las perspectivas de este parasitoide para su utilización en programas de CB aumentativo destinados al control de *T. absoluta* sobre las dos especies de solanáceas, pudiendo aplicarse en aquellos predios hortícolas en donde estén presentes ambos cultivos.

Capítulo 6

6.1. Conservación de las poblaciones de *Pseudapanteles dignus* en los Agroecosistemas

Este trabajo de tesis doctoral aportó conocimientos sobre la dinámica espacio-temporal de *P. dignus*, un endoparásitoide larval de la plaga *Tuta absoluta*, el cual se encuentra presente de manera espontánea en la región del Cinturón Hortícola Platense (CHP).

Pseudapanteles dignus reúne una serie de características positivas para ser considerado un buen agente de control de *T. absoluta*. Por lo tanto, el conocimiento acerca de cómo este parásitoide utiliza los recursos en los períodos en que el tomate aún no está implantado, aporta datos que permiten promover su presencia, contribuyendo así a la persistencia de sus poblaciones. De esta manera, la presente investigación permite concluir sobre la posibilidad de una manipulación del hábitat, a fin de conservar a este parásitoide en el agroecosistema y promover la disminución y/o eliminación del uso de plaguicidas sintéticos en el cultivo de tomate, priorizando el control biológico.

En el presente trabajo se evidenció por primera vez la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* en otras especies de solanáceas diferentes del tomate, mostrando que esta interacción es parte de una compleja red alimentaria, conformada por solanáceas cultivadas y de crecimiento espontáneo, *T. absoluta* y otros herbívoros geléquidos, y *P. dignus* y otros parásitoides larvales. Esta información amplía la diversidad natural de plantas hospederas de *T. absoluta*, y confirma el estrecho rango de insectos hospedadores de *P. dignus* para esta región.

Por otra parte, se describió por primera vez un rico ensamble parasitario asociado a *T. absoluta* en las distintas especies de solanáceas cultivadas y silvestres del CHP, brindando información novedosa acerca de la diversidad y abundancia de los mismos en dichos agroecosistemas. Esto corrobora la predicción realizada acerca de que las solanáceas silvestres y cultivadas diferentes del tomate presentes en los predios hortícolas, benefician a los parasitoides proporcionándoles recursos (florales y extraflorales), insectos hospedadores potenciales y refugios alternativos al cultivo de tomate.

Además se evidenció que *P. dignus* exhibe una mayor especificidad por la especie hospedadora, parasitando únicamente a *T. absoluta*, independientemente de la especie vegetal en la que esta se halle.

Por otra parte, los resultados obtenidos indican que las especies silvestres *N. glauca*, *S. americanum*, y *S. sisymbriifolium* ayudarían a mantener la interacción *T. absoluta* - *P. dignus* en los cultivos de solanáceas tales como la berenjena y el tomate.

En conclusión, la aplicación de futuros programas de control biológico por conservación de *T. absoluta* en la Argentina debería considerar, además de lo anteriormente mencionado, la eliminación y/o reducción del número de aplicaciones y/o el uso de plaguicidas selectivos y promover conjuntamente la investigación de otras técnicas fitosanitarias (por ej. la rotación de cultivos, la utilización de genotipos resistentes, cultivos trampa, policultivos, etc.) a fin de proporcionar a los agricultores las herramientas necesarias para reducir al mínimo posible el uso de agrotóxicos en las explotaciones hortícolas.

6.2. CB aumentativo de *P. dignus*

En esta investigación se probó que a una densidad de 10 hospedadores por planta, la liberación de 3 hembras del parasitoide produce porcentajes de parasitismo más altos (61%) que la liberación a una tasa mayor (5 individuos hembra de *P. dignus*). Esto sugiere que el control de la polilla a densidades del parasitoide mayores de 3 hembras, podría verse afectado por un fenómeno de interferencia mutua por parte de las avispas en la unidad experimental, generando una autolimitación en la población del parasitoide al reducir su tasa de parasitismo.

Cabe resaltar la importancia de los valores de parasitismo hallados ya que los mismos fueron elevados, al igual que los observados por Nieves et al. (2015) para este parasitoide en condiciones naturales.

Se evidenció además que a densidades del hospedador de 4 larvas por planta, la liberación de 1 (35%) o 2 avispas (23%) de *P. dignus* no afectó el porcentaje de parasitismo causado. Esto, sumado al hecho de no haber registrado parasitismo a la densidad de 2 larvas por planta podría indicar la disminución de la eficiencia de búsqueda del parasitoide a menores densidades del hospedador.

Por otra parte, se registró que sólo una de las 15 hembras observadas parasitó durante el tiempo de estudio, lo que sugiere que éstas necesitan un mayor tiempo, luego de la liberación, para lograr un parasitismo efectivo.

También se demostró que la tasa de parasitismo (respuesta funcional) de la hembra de *P. dignus* sobre plantas de berenjena fue independiente de la densidad de larvas de *T. absoluta* ofrecidas al igual que lo ya conocido en tomate, con una tasa de ataque similar en ambas solanáceas, 0,24 y 0,22 respectivamente. Siendo estos valores medios en comparación con los reportados para otros parasitoides, como por ejemplo *Cotesia glomerata* L. (Hymenoptera: Braconidae) (Le Masurier & Waage, 1993). Esta investigación contribuye a aportar conocimientos básicos para el CB de *T. absoluta* en cultivos de berenjena del CHP, sobre los cuales dicha plaga representa un riesgo

potencial. Además, aumenta las perspectivas de este parasitoide para su utilización en programas de CB aumentativo destinados al control de *T. absoluta* sobre las dos especies de solanáceas, pudiendo aplicarse en aquellos predios hortícolas en donde estén presentes ambos cultivos.

6.3 Consideraciones Finales

Los resultados de esta investigación contribuyen a profundizar el conocimiento acerca de *P. dignus*, uno de los parasitoides más importantes de la “polilla del tomate” *T. absoluta*, sentando las bases para su empleo en el CB de esta plaga en Argentina basado en liberaciones aumentativas y estrategias de conservación.

Como investigaciones futuras se propone profundizar en los siguientes aspectos:

- Estimar la efectividad de liberaciones aumentativas de *P. dignus* en condiciones de campo.
- Determinar el rendimiento del cultivo bajo esta estrategia de control en el Cinturón Hortícola Platense.
- Rever el UE y NDE reportados para la región.
- Optimizar la cría de *P. dignus* y de *T. absoluta* a partir de la elaboración de una dieta artificial en vista de una producción masiva del parasitoide.

Referencias bibliográficas

- Abbas, S., Pérez-Hedo, M., Colazza, S. & Urbaneja, A. (2014). The predatory mirid *Dicyphus maroccanus* as a new potential biological control agent in tomato crops. *BioControl*, 59: 565-574.
- Aguilar, M., Cantor F., Cure J., Rodríguez D., Bajonero J., Pérez D. & Riaño D. (2010). *Integración de conocimientos y tecnologías de polinización y control biológico*. Universidad Militar Nueva Granada. UMNG. 19 pp.
- Altieri, M.A. (1992). *Biodiversidad, agroecología y manejo de plagas*. CETAL (Centro de Estudios de Tecnologías Apropriadas para América Latina y el Caribe). Chile. 162 pp.
- Altieri, M.A. (1994). *Biodiversity and pest management in agroecosystem*. Haworth Press. New York. 185 pp.
- Altieri, M.A. (2002). Agroecología: principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. 'Pp: 49-56. En: S.J. Sarandón, (Ed.). *Agroecología: El camino hacia una agricultura sustentable*. Ediciones Científicas Americanas, La Plata.
- Altieri, M.A. (2009). El estado del arte de la agroecología: Revisando avances y desafíos. Pp 69-94. En: M.A. Altieri (Ed.). *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones*. Sociedad Científica. Socla. Medellín. Colombia.
- Altieri, M.A. & Nicholls, C.I. (2000). *Agroecología: Teoría y Práctica para una Agricultura Sustentable*. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. México D.F. México. Primera edición. 257 pp.

- Al-Wahaibi, A.K. & Walker, G.P. (1999). Oviposition behaviour of *Anagrus nigriventis*, an egg parasitoid of beet leafhopper, *Circulifer tenellus*. *BioControl*, 45:139-153.
- Al-Wahaibi, A.K. & Walker, G.P. (2000). Searching and oviposition behaviour of a mymarid egg parasitoid, *Anagrus nigriventis*, on five host plant species of its leafhopper host, *Circulifer tenellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96: 9-25.
- Andow, D. A. (1991). Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual Review of Entomology*, 36: 561-586.
- Aragón, S., Rodríguez, D. & Cantor, F. (2008). Criterios de liberación de *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) para el control de *Trialetrodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) en tomate. *Agronomía Colombiana*, 26: 277-284.
- Argerich, C. (2011). La importancia del cultivo de tomate en Argentina. Taller: La polilla del tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. INTA-UNLP.
- Argerich, C. (2015). Asociación Tomate 2000. Programa para el aumento de la competitividad de la industria del tomate. Informe progresos 2014-2015. Cosme A. Argerich, (ed.). La Consulta, INTA EEA La Consulta, 2015. <http://inta.gob.ar/unidades/512000> ISSN 1853-6972.
- Argerich, C. & Troilo, L. (2010). *Buenas prácticas agrícolas en la cadena de tomate*. FAO, INTA. Buenos Aires, Argentina, 258 pp. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/i1746s/i1746s> (Acceso: 12/21/2015).
- Argerich, C. & Gaviola J.C. (2011). *Manual de producción de semillas hortícolas. Tomate*. INTA. 81pp.

- Arnó, J., Mussoll, A., Gabarra, R., Sorribas, R., Prat, M., Garreta, A., Gómez, A., Matas, M., Pozo, C. & Rodríguez, D. (2009). *Tuta absoluta* una nueva plaga en los cultivos de tomate. Estrategias de manejo. Phytoma España, 211: 16–22.
- Baldwin, E. A., Goodner, K. & Plotto, A. (2008). Interaction of volatiles, sugars and acids on perception of tomato aroma and flavor descriptions. Journal of Food Science, 73: 294–307.
- Barbosa, P. (1998). *Conservation Biological Control*. Academic Press, San Diego, California, 397 pp.
- Barrientos, Z.R., Apablaza, H.J., Norero, S.A. & Estay, P.P. (1998). Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Ciencia e Investigación Agraria, 25: 133–137.
- Bawin, T., Dujeu, D., De Baker, L., Fauconnier, M.L., Lognay, G., Delaplace, P., Francis, F. & Verheggen, F.J. (2015). Could alternative solanaceous hosts act as refuges for the tomato leafminer, *Tuta absoluta*? Arthropod-Plant Interactions. DOI 10.1007/s11829-015-9383-y.
- Begum, M., Gurr, G.M., Wratten, S.D., Hedberg, P.R. & Nicol, H.I. (2006). Using selective food plants to maximize biological control of vineyard pests. Journal of Applied Ecology, 43: 547–554.
- Belda, J., Javier Calvo, F. J., Soriano, J.D. & Bolckmans, K.J.F. (2013). *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae) as the basis for control *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato protected crops in Spain. 4th International Symposium of Biological control of Arthropods, Pucón, Chile.
- Bellows, T.S. & Fisher, T.W. (1999). (Eds.). Handbook of biological control. Principles and applications of biological control. Academic Press. 1046 pp.

Bellows, T.S., Jr. & Van Driesche, R.G. (1999). Life table construction and analysis for evaluating biological control agents. Pp. 199-223. In: T. S. Bellows & T. W. Fisher (Eds.). *Handbook of Biological Control*. Academic Press, San Diego, California, USA.

Benachour, N. & Seralini, G-E. (2009). Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. *Chemical Research in Toxicology*, 22: 97-105.

Benamú, M.A., Schneider, M.I. & Sánchez, N.E. (2010). Effects of the herbicide glyphosate on biological attributes of *Alpaida veniliae* (Araneae: Araneidae), in laboratory. *Chemosphere*, 78: 871-876.

Benitez-Leite, S., Macchi, M.A. & Acosta, M. (2009). Malformaciones congénitas asociadas a agrotóxicos. *Archives Pediatric Drug*, 80: 237-247.

Bennett, F.D. (1995). Parasites of the pepper flower-bud moth (Lepidoptera: Gelechiidae) in Florida. *Florida Entomologist*, 78: 546-549.

Benton, T.G., Vickery, J.A. & Wilson, J.D. (2003). Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key?. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 182-188.

Berta, C.D. & Pérez, E.C. (2011). Una alternativa biológica para el control de la "polilla del tomate". Taller: La polilla del tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. Noviembre de 2012. INTA-UNLP.

Bigler, F., Babendreier, D. & Kuhlmann, U. (2006). *Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: methods and risk assessment*. Swiss Federal Research Station for Agroecology and Agriculture, Zürich, Switzerland. 299pp.

- Biondi, A., Desneux, N., Amiens-Desneux, E., Siscaro, G. & Zappala, L. (2013). Biology and developmental strategies of the palaearctic parasitoid *Bracon nigricans* (Hymenoptera: Braconidae) on the neotropical moth *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, 106: 1638-1647.
- Blaauw, B.R. & Isaacs, R. (2015). Wildflower plantings enhance the abundance of natural enemies and their services in adjacent blueberry fields. *Biological Control*, 91: 94-103.
- Bohan, D.A., Raybould, A., Mulder, C., Woodward, G., Tamaddon-Nezhad, A., Bluthgen, N., Pocock, M.J.O., Muggleton, S., Evans, D.M., Astegiano, J., Massol, F., Loeuille, N., Petit, S. & Macfadyen, S. (2013). Networking agroecology: Integrating the diversity of agroecosystem interactions. Pp. 495-506. In: G. Woodward & D.A. Bohan (Eds.). *Advances in Ecological Research. Ecological Networks in an Agricultural World*, Imperial College London, U.K..
- Botto, E.N., Ceriani, S., López, S., Saini, E., Cédola, C., Segade, G. & Viscarret, M. (1998). Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La experiencia hasta el presente. *Revista de investigaciones agropecuarias (INTA)*, 29: 83-98.
- Botto, E.N. (1999). Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 58: 58-64.
- Brambila, J., Lee, S. & Passoa, S. (2010). *Tuta absoluta*, the Tomato Leafminer, Field Screening and Diagnostic Aid. Cooperative Agricultural Pest Survey Program. 4 pp. Available in: http://caps.ceris.purdue.edu/screening/tuta_absoluta
- Brechelt, A. (2004). *El Manejo Ecológico de Plagas y Enfermedades*. Fundación Agricultura y Medioambiente, Rep. Dominicana. Primera edición. 36 pp.

- Briand, F. & Cohen, J.E. (1987). Environmental correlates of food chain length. *Science*, 238: 957-959.
- Bueno, V.H.P., Montes, F.C., Pereira, A.M.C., Lins Jr., J.C., & van Lenteren, J.C. (2012). Can recently found Brazilian hemipteran predatory bugs control *Tuta absoluta*? Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate IOBC-WPRS Bulletin, 80: 63-67.
- Bueno, V.H.P., van Lenteren, J.C., Lins Jr., J.C., Flavio, C., Montes, F.C., Calixto, A.M. & Silva, D.B. (2013). Biological control of *Tuta absoluta*: sampling and evaluation of new hemipteran predators found in Brazil. 4th International Symposium of Biological control of Arthropods, Pucón, Chile.
- Burns, E.D., Diaz, J. & Holler, T.C. (1996). Inundative release of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* for the control of the Caribbean fruit fly *Anastrepha suspensa* (Loew). Pp. 377-381. In: B.A. McPherson & G.F. Steck (Eds.). *Fruit Fly Pests. A World Assessment of Their Biology and Management*. St. Lucie Press, Delray Beach, FL.
- Cabello, T., Gallego, J.R., Fernandez, F.J., Gamez, M., Vila, E., Del Pino, M. & Hernandez-Suarez, E. (2012). Biological control strategies for the south american tomato moth (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomatoes. *Journal Entomological Society of America*, 105: 2085-2096.
- Cabrera Walsh, G., Briano, J. & Briano, A.E. (2012). Control Biológico de Plagas. *Ciencia Hoy*, 128: 57-64.
- Cáceres, S. (2004). Moscas blancas del complejo *Bemisia tabaci* en cultivos hortícolas de Corrientes. Estrategias de manejo. Pp. 9-13. En: Mosca blanca *Bemisia tabaci*. Jornada de Actualización. La Plata, Buenos Aires.

- Cagnolo, L., Salvo, A. & Valladares, G. (2011). Network topology: patterns and mechanisms in plant-herbivore and host-parasitoid food webs. *Journal of Animal Ecology*, 80: 342–351.
- Cagnotti, C.L., Viscarret, M., Riquelme, M.B. & López, S.N. (2012). Effects of X-rays on *Tuta absoluta* for use in inherited sterility programmes. *Journal of Pest Science*, 85: DOI: 10.1007/s10340-012-0455-9.
- Cantor, F. & Rodriguez, D. (2013). Implementation of a biological control program for *Tuta absoluta* in greenhouse with the parasitoid *Apanteles gelechiidivoris* in Colombia. 4th International Symposium of Biological control of Arthropods, Pucón, Chile.
- Caparros Megido, R. & Haubruge, E. (2012). First evidence of deuterotokous parthenogenesis in the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Pest Science*, 85:409–412.
- Cardona, C. & Oatman, R. (1971). Biology of *Apanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), a primary parasite of the tomato pinworm. *Annals of the Entomological Society of America*, 64: 996- 1007.
- Castro, Chacón, Y. & López, S.N. (2010). Biología de *Eretmocerus mundus* (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoide del complejo *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), en condiciones de laboratorio. *Sociedad Entomologica Argentina*, 69: 45-56.
- Cely, L., Cantor, F. & Rodríguez, D. (2010). Determination of levels of damage caused by different densities of *Tuta absoluta* populations (Lepidoptera: Gelechiidae) under greenhouse condition. *Revista Agronomía Colombiana*, 23: 403-413.
- Chailleux, A., Bearez, P., Pizzol, J., Amiens-Desneux, E., Ramirez Romero, R. & Desneux, N. (2013). Potential for combined use of parasitoids and generalist

predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. Journal of Pest Science, 86: 533-541.

Chesson, P. L. & Murdoch, W.W. (1986). Aggregation of risk: relationships among host-parasitoid models. The American Naturalist, 127: 696-715.

Colomo, M.V., Berta, D.C. & Chocobar, M.J. (2002). El complejo de himenópteros parasitoides que atacan a la “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en la Argentina. Acta Zoológica Lilloana, 46: 81-92.

Consoli, F. L., Parra, J.R.P. & Hassan, S.A. (1998). Side- effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym, Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of Applied Entomology, 122: 43-47.

Constanza, R., d’Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Shahid, N., O’Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P. & van de Belt, M. (1997). The value of the world’s ecosystem services and natural capital. Natura, 387: 253-260.

Coombs, J., Coombs, R.F. (2003). A dictionary of biological control and integrated pest management. CPL Pres.

Cordo, H.A., Logarzo, G., Braun, K. & Di Iorio, O. (2004). *Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina y sus Plantas Asociadas*. Primera edición. Sociedad Entomológica Argentina ediciones. Buenos Aires, Argentina. 734 pp.

Corvo Dolcet, S. (2005). Zonas de producción del cultivo del tomate en la Argentina. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Forestación. Dirección de Agricultura. <http://www.seedquest.com/News/releases/2005/pdf/13528.pdf>. Acceso: 10/12/2015.

Daily, G.C., Alexander, S., Ehrlich, P.R., Goulder, L., Lubchenco, J., Matson, P.A., Mooney, H.A., Postel, S., Schneider, S.H., Tilman, D. & Woodwell, G.M. (1997). Ecosystem Services: Benefits Supplied to Human Societies by Natural Ecosystems. *Issues in Ecology* 2: 16 pp.

Dannon, E.A., Tamo, M, van Huis, A. & Dicke, M. (2010). Functional response and life history parameters of *Apanteles taragamae*, a larval parasitoid of *Maruca vitrata*. *BioControl*, 55: 363–378.

Daunay (2008). Eggplant. Prohens J, Nuez F, editors. *Handbook of Plant Breeding - Vegetables II*. New York: Springer. 163–220.

Defensor del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires/Universidad Nacional de La Plata. (2015). Relevamiento de la Utilización de Agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires – Mapa de Situación e Incidencia sobre la Salud. S.J. Sarandón y J.C. Colombo (Dirs.); Biblioteca Virtual del Defensor; 532 p. <http://www.defensorba.org.ar/publicaciones/informe-agroquimicos/download/Relevamiento-de-la-Utilizacion-de-Agroquimicos-en-la-Pcia-de-Buenos-Aires.pdf>

De Gerónimo, E., Aparicio, V.C., Bárbaro, S., Portocarrero, R., Jaime S. & Costa, J.L. (2014). Presence of pesticides insurface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere*, 107: 423-431.

de Medeiros, M.A.; Villas Böas, G.L.; Vilela, N.J. & Carrijo, O.A. (2009). Estudo preliminar do controle biológico da traça-do-tomateiro com o parasitoide *Trichogramma pretiosum* em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira*, 27: 80-85.

del Pino, M., Massi, M., Carpintero, D.L. (2012). Principales plagas y enemigos naturales del cultivo de berenjena bajo producción orgánica en invernadero en La Plata. XXXV Congreso Argentino de Horticultura.

De Roos, A.J., Blair, A., Rusiecki, J.A, Hoppin, J.A, Svec, M., Dosemeci, M., Sanfler, D.P. & Alavanja, M.C. (2005). Cancer. Incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the agricultural healthy study. Environmental Health Perspectives, 113: 49-54.

De Santis, L. (1983). Un nuevo género y dos nuevas especies de eulófidos neotropicales (Insecta, Hymenoptera). Revista Peruana de Entomología, 26: 1-4.

Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narvaez-Vasquez, C.A., Gonzalez-Cabrera, J., Catalan Ruescas, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T. & Urbaneja, A. (2010). Biological invasion of European tomato crops *Tuta absoluta*: ecology, history of invasion and prospects for biological control. Journal of Pest Science, 83: 197-215.

Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T. & Urbaneja, A. (2011). The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. Journal of Pest Science, 84: 403-408.

De Vis, R. (2001). Biological control of whitefly on greenhouse tomato in Colombia: *Encarsia formosa* or *Amitus fuscipennis*? Tesis doctoral. Universidad de Wageningen (Holanda).

Díaz, M.F., Ramírez, A. & Poveda, K. (2012). Efficiency of different egg parasitoids and increased floral diversity for the biological control of noctuid pests. Biological Control, 60: 182-191.

- Doutt, R.L. (1947). Polyembryony en *Copidosoma koehleri* Blanchard. American Naturalist, 81: 435-453.
- Doutt, R.L., (1959). The biology of parasitic hymenoptera. Annual Review of Entomology, 4: 161-182.
- Eilenberg, J. (2006). Concepts and visions of biological control. Pp: 1-11. In: J. Eilenberg & H.M.T. Hokkanen (Eds.). *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. ISBN: 978-1-4020-4320-8 (Print) 978-1-4020-4401-4 (Online)
- El Arnaouty, S.A. & Kortam, M.N. (2012). First Record of the Mired Predatory Species, *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae) on the Tomato Leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 22: 223-224.
- EPPO. 2006. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Data sheets on quarantine pests. *Tuta absoluta*. http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta_absoluta/DS_Tuta_absoluta.pdf. Acceso: 25-04-2014.
- EPPO. 2012. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Volumen 42. ISSN: 1365-2338. Disponible en: onlinelibrary.wiley.com. Acceso 27-09-2016.
- Escalona, V.C., Alvarado, P.V., Monardes, H.M., Urbina, C.Z. & Martin, A.B. (2009). Manual de Cultivo de Tomate. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. 60pp.
- Esch, S., Klinkhamer, P.G.L. & Van der Meijden, E. (2005). Do distances among host patches and host density affect the distribution of a specialist parasitoid? Oecologia (Berlin), 146, 218-226.

- Estay, P. (2000).** Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigacion La Platina, Ministerio de Agricultura Santiago Chile. <http://www.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR25648.pdf>. Acceso: 11/06/2013.
- Faria, C., Torres, J.B. & Farias, A.M. (2000).** Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): efeito da idade do hospedeiro. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 29: 85-93.
- Fedriani, J.C. (2010).** Lógicas y tendencias de la expansión residencial en áreas periurbanas. El partido de La Plata. Buenos Aires. Tesis Doctoral. Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, Universidad de La Plata, Argentina.
- Fernández, S. & Montagne, A. (1990).** Biología del minador del tomate *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Boletín de Entomología Venezolana, 5: 89-99.
- Fernandez-Arhex, V. & Corley, J.C. (2003).** The functional response of parasitoids and its implications for biological control. Biocontrol Science and Technology 13: 403-413.
- Fernández Arhex, V. & Corley, J.C. (2004).** La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. Asociación Argentina de Ecología. Ecología Austral, 14:83-93.
- Fernández, F. & Sharkey, M.J. (2006).** *Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical*. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C. 894 pp.
- Fernández-Triana, J.L., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Whitfield, J.B., Smith, M.A. & Kula, R. (2014).** Revision of the genus *Pseudapanteles* (Hymenoptera,

Braconidae, Microgastrinae), with emphasis on the species in Area de Conservación Guanacaste, northwestern Costa Rica. *ZooKeys*, 446: 1-82.

Ferratto, J.A. & Rodríguez Fazzone, M. (2010). *Buenas Prácticas Agrícolas para la Agricultura Familiar. Cadena de las principales hortalizas de hojas en Argentina.* Buenos Aires. Argentina. 535 pp.

Fiedler, A.K., Landis, D.A. & Wratten, S.D. (2008). Maximizing ecosystem services from conservation biological control: The role of habitat management. *Biological Control*, 45: 254-271.

Fischbein, D. (2012). Introducción a la teoría del control biológico de plagas. Pp: 1-21. En: J. Villacide & J. Corley (Eds.) Serie Técnica: *Manejo Integrado de Plagas Forestales*. Cuadernillo nº15. Argentina.

Folcia, A.M. (2013). Evaluación de *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera-Braconidae) como posible agente de control biológico de *Tuta Absoluta* (Lepidoptera-Gelechiidae), plaga clave del cultivo de tomate en los alrededores del Gran Buenos Aires. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Forero, G. (2006). Determinación de algunos criterios para el control de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) con el ácaro depredador *Amblyseius* (*Neoseiulus*) sp. (Acari: Phytoseiidae) en rosas. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá. 53 pp.

Gabarra, R. & Arnó, J. (2010). Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña. *Phytoma*, 217:65-68

Gabarra, R., Arnó, J., Lara, L., Verdú, M.J., Ribes, A., Beitia, F., Urbaneja, A., Téllez, M., Mollá, O. & Riudavets, J. (2014). Native parasitoids associated with *Tuta absoluta*

in the tomato production areas of the Spanish Mediterranean Coast. *Biocontrol*, 59: 45-54.

Galarza, J. (1984). Laboratory assessment of some Solanaceous plants as possible food plants of tomato moth *Scrobipalpula absoluta*. 3 IDIA, 421/424: 30-32.

Garat, J.J. (2002). Tomate platense en La Plata, Argentina. *Biodiversidad*, 34: 19-21.

Garat, J.J. (2009). Las hortalizas típicas locales en el cinturón verde de La Plata: su localización, preservación y valorización. *Horticultura Argentina* 28: 32-39.

García, M.F. & Espul, J.C. (1982). Bioecología de la polilla del tomate (*Scrobipalpula absoluta*) en Mendoza, República Argentina. *Revista de Investigación Agropecuarias INTA (Argentina)*, 18: 135-146.

García Roa, F. (1989). *Plagas del tomate y su manejo*. ICA Palmira, Colombia. 5 pp.

García, M. (2012). Análisis de las transformaciones de la estructura agraria hortícola platense en los últimos 20 años. El rol de los horticultores bolivianos. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, La Plata.

Ghimire, M.N. & Phillips, T.W. (2008). Effects of Prior Experience on Host a Utilization by Two Populations of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental Entomology*, 37: 1300-1306.

Giustolin, T.A., Vendramim, J.D., Alves, S.B., Vieira, S.A. & Pereira, R.M. (2001). Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep, Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Journal of Applied Entomology*, 125:551-556.

Gliessman, S.R. (2001). *Agroecología: Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible*. CATIE, Turrialba. 359pp.

- Gliessman, S.R., Rosado-May, F.J., Guadarrama-Zugasti, C., Jedlicka, J., Cahn, A., Mendez, V.E., Cohen, R., Trujillo, L., Bacon, C. & Jaffe, R. (2007). Agroecología: promoviendo una transición hacia la sostenibilidad. *Ecosistemas*, 16: 13-23.
- Goites, E. (2008). *Manual de cultivos para la huerta orgánica familiar*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 136 pp.
- Goulet, H. & Huber J.T. (1993). *Hymenoptera of the world: An identification guide to families*. Agriculture Canada, Ottawa, Ontario. 680 pp.
- Grbic, M. (2003). Polyembryony in parasitic wasps: Evolution of a novel mode of development. *The International Journal Developmental Biology*, 47:633-642.
- Greco, N.M., Sánchez, N.E. & Pereyra, P.C. (2002). Principios de manejo de plagas en una agricultura sustentable. Pp: 251-274. En: S.J. Sarandón (Ed.). *Agroecología: El camino hacia una agricultura sustentable*. Ediciones Científicas Americanas, La Plata. Argentina.
- Green, R.F., Gordh, G. & Hawkins, B.A. (1982). Precise sex ratios in highly inbred parasitic wasps. *The American Naturalist*, 120: 653-665.
- Gurr, G.M., Wratten S.D. & Luna J.M. (2003). Multi-function agricultural biodiversity: pest management and other benefits. *Basic Applied Ecology*, 4: 107-116.
- Gurr, G.M., Wratten, S.D. & Snyder, W.E. (2012). *Biodiversity and Insect Pests: Key Issues for Sustainable Management*. Wiley, Ltd, U.K. 360 pp.
- Hang, G., Kabet C., Bravo, M.L., Larrañaga, G., Seibane, C., Ferraris, G., Otaño, M. & Blanco V. (2010). Identificación de sistemas de producción hortícola en La Plata, Buenos Aires, Argentina. *Bioagro*, 22: 81-86.

- Hanski, I. (1998). Metapopulation dynamics. *Nature*, 396, 41–49.
- Hardell, L., Eriksson, L. & Nordstrom, M. (2002). Exposure to pesticides as risk factor for non-Hodgkin's lymphoma and hairy cells leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies. *Leukemia and Lymphoma*, 43: 1043-1049.
- Hassell, M.P. (1982). Patterns of parasitism by insect parasitoids in patchy environments. *Ecological Entomology*, 7: 365-377.
- Hassell, M.P. (2000). Host- parasitoids population dynamics. *Journal of Animal Ecology*, 69: 543-566.
- Hassell, M. P. & May, R.M. (1973). Stability in insect host parasite models. *Journal of Animal Ecology*, 42: 693-726.
- Hassell, M. P. & May, R.M. (1974). Aggregation of predators and insect parasites and its effect on stability. *Journal of Animal Ecology*, 43: 567-594.
- Hassell, M.P & Varley, G.C. (1969). New inductive population model for insect parasites and its bearing on biological control. *Nature*, 223: 1133–1136.
- Hawkins, B.A. (1994). *Pattern and Process in Host-Parasitoid Interactions*. Cambridge University Press, Cambridge. 56 pp.
- Hawkins, B.A. & Sheehan, W. (1994). *Parasitoid Community Ecology*. Oxford, UK: Oxford University Press. 516 pp.
- Higley, L.G. & Pedigo, L.P. (1996). *Integrated Pest Management*. University of Nebraska Press. Lincoln & London. 327pp.

Hoddle, M.S., Van Driesche, R.G. & Sanderson, J. (1997). Biological control of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on poinsettia with inundative releases of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae): Are higher release rates necessarily better?. *Biological Control*, 10: 166-179.

Hoddle, M.S., Van Driesche, R. & Sanderson, J. (1998). Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. *Annual Review of Entomology*, 43, 645-669.

Hoddle, M.S. (2000). Are parasitism rates of whiteflies affected by parasitoid release rates? Pp. 22-28. En: *Proceedings. California conference on biological control*, julio 11-12 de 2000, Mission Inn, Riverside, CA.

Holling, C. S. (1959). Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Canadian Entomology*, 91: 385-398.

Ingegno, B.L., Ferracini, C., Gallinotti, D., Alma, A. & Tavella, L. (2013). Evaluation of the effectiveness of *Dicyphus errans* (Wolff) as predator of *Tuta absoluta* (Meyrick). *Biological Control*, 67: 246-252.

Isaacs, R., Tuell, J., Fiedler, A., Gardiner, M. & Landis, D. (2009). Maximizing arthropod-mediated ecosystem services in agricultural landscapes: the role of native plants. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7: 196-203.

Jacas, J.A. & Urbaneja, A. (2008). *Control Biológico de Plagas Agrícolas*. Pytoma Ed. España. 496pp.

Jetter, K. (2005). Economic framework for decision making in biological control. *Biological Control*, 35: 348-357.

Juliano, S.A. (2001). Nonlinear Curve Fitting. Predation and Functional Response Curves. Pp: 178-197. In: S.M. Scheiner & J. Gurevitch (Eds.) *Design and Analysis of Ecological Experiments*. Second edition. Oxford. University Press.

- Kenis, M., Herz, K., West, R.J. & Shaw, M.R. (2005).** Parasitoid assemblages reared from geometrid defoliators (Lepidoptera: Geometridae) of larch and fir in the Alps. *Agricultural and Forest Entomology*, 7, 307–318.
- Kogan, M. (1986).** *Ecological theory and integrated pest management* Wiley-Interscience. New York, USA. 362 pp.
- Landis, D.A., Wratten, S.D. & Gurr, G.M. (2000).** Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review Entomology*, 45: 175–201.
- Lange, W.H. & Bronson, L. (1981).** Insect pests of tomato. *Annual Review of Entomology*, 26: 345-371.
- Lanteri, A. A., Loíacono, M.S. & Margaría, C. (2002).** Aportes de la biología molecular a la conservación de los insectos. En: Costa, C.; S. A. Vanin; J. M. Lobo; y A. Melic (eds.). Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática, PrIBES. 2:207 – 220.
- La Salle, J. & Gauld I.D. (1993).** Hymenoptera: their diversity, and their impact on the diversity of other organisms. Pp. 1-26. In: J. La Salle & I.D. Gauld (Eds.). *Hymenoptera and Biodiversity*. CAB Institute of Entomology Publications, Wallingford, UK.
- Le Masurier, A.D. & Waage, J.K. (1993).** A comparison of attack rates in a native and an introduced population of the parasitoid *Cotesia glomerata*. *Biocontrol Science and Technology*, 3: 467-474.
- Lee, S., Hodges, R.W. & Brown R.L. (2009).** Checklist of Gelechiidae (Lepidoptera) in America North of Mexico. *Zootaxa*, 2231: 1-39.

- Letourneau, D.K. (1998).** Conservation biology: lessons for conserving natural enemies. Conservation Biological Control (ed. by P. Barbosa), Pp. 9–37. Academic Press, San Diego, California.
- Levins, R. (1969).** Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. Bulletin of the Entomological Society of America, 15: 237–240.
- Lewinsohn, T.M., Prado, P.I., Jordano, P., Bascompte, J. & Olesen, J. (2006).** Structure in plant–animal interaction assemblages. Oikos, 113: 174–Introl of insect pests in litchi orchards in China. Biological Control, 68: 23–36.
- Li, D-S., Liao, C., Zhang, B-X. & Song, Z-W. (2014).** Biological control of insect pests in litchi orchards in China. Biological Control, 68: 23–36.
- Lietti, M.M., Botto, E. & Alzogaray, R.A. (2005).** Insecticide resistance in argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotropical Entomology, 34: 113–119.
- Lobos, E. (2011).** Uso de las feromonas de *Tuta absoluta* Meyrick, para el monitoreo y la protección del cultivo de tomate. Taller: La polilla del tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. INTA-UNLP.
- López, S.N., Cagnotti, C. & Andorno, A. (2011).** *Tupiocoris cucurbitaceus*: agente potencial de control biológico de *Tuta absoluta*. Taller: La polilla del tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. Noviembre de 2012. INTA-UNLP.
- López, S.N., Arce Rojas, F., Villalba Velásquez, V. & Cagnotti C. (2012).** Biology of *Tupiocoris curcubitaceus* (Hemiptera:Miridae), a predator of the greenhouse

whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera:Aleyrodidae) in tomato crops in Argentina. *Biocontrol Science and Technology*, 22: 1107-1117.

Louda, S.M., Arnett, A.E., Rand, T.A., Russell, F.L. (2003). Invasiveness of some biological control insects and adequacy of their ecological risk assessment and regulation. *Conservation Biology*, 17: 73–82.

Luck, R. F., Shepard, B.M., & Kenmore, P.E. (1999). Evaluation of biological control with experimental methods. Pp. 225–242. In: T. S. Bellows & T. W. Fisher (Eds.), *Handbook of Biology Control*. Academic Press, New York, NY.

Luck, R.F. & Forster, L.D. (2003). Quality of augmentative biological control agents: a historical perspective and lessons learned from evaluating *Trichogramma*. Pp. 231–246. In: J.C. van Lenteren (Ed.), *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. CABI Publishing, Wallingford, UK,

Luna, M.G., Sánchez, N.E. & Pereyra, P.C. (2007). Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) under laboratory conditions. *Environmental Entomology*, 36: 887-893.

Luna, M.G., Wada, V.I. & Sánchez, N.E. (2010). Biology of *Dineulophus phthorimaeae* (Hymenoptera: Eulophidae), and field interaction with *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato. *Annals of the Entomological Society of America*, 103: 936-942.

Luna, M.G., Wada, V.I, La Salle, J. & Sanchez, N.E. (2011). *Neochrysocharis Formosa* (Westwood) (Hymenoptera: Eulophidae), a Newly Recorded Parasitoid of the Tomato Moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), in Argentina. *Neotropical Entomology*, 40: 412-414.

- Luna M.G., Pereyra, P.C., Coviella, C.E., Nieves, E., Savino, V., Salas Gervassio, N.G., Luft, E., Virla, E. & Sanchez, N.E. (2015). Potential of biological control agents against *Tuta absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae): current knowledge in Argentina. Florida Entomologist, 98: 489-494.
- Luna, M.G., Desneux, N. & Schneider, M.I. (2016). Encapsulation and se superparasitism of *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera: Braconidae. PLOSONE (en prensa).
- Mac Lennan, P.A., Delzell, E., Sathiakumar, N., Myers, S.L., Cheng, H., Grizzle, W., Chen, V.W. & Wu, X.C. (2002). Cancer incidence among triazine herbicide manufacturing workers. Journal of Occupational and Environmental Medicine, 44: 1048-1058.
- Maldonado, N. (2014). Con mano boliviana, La Plata se convirtió en el mayor productor hortícola del país. Diario *El Día*, 17 de Agosto de 2015.
- Mangione, J.L. & Sánchez, M.G. (1999). Inspección de frutas y hortalizas. Laboratorio de Fitopatología. Disponible en www.mercadocentral.gob.ar. Acceso: 26-09-2016.
- Marchiori, C.H., Silva, C.G. & Lobo, A.P. (2004). Parasitoids of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) collected on tomato plants in Lavras, state of Minas Gerais, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 64: 551-552.
- Marzocca, A. (1976). *Manual de Malezas*. Hemisferio Sur Ediciones, Buenos Aires, Argentina. 564 pp.
- Mason, W.R.M. (1981). The polyphyletic nature of Apanteles Foerster (Hymenoptera: Braconidae): A phylogeny and reclassification of Microgastrinae. Memoirs of the Entomological Society of Canada, Ottawa, Canada, 147 pp.

- Mena-Covarrubias, J. (2009).** Alternativas de control biológico de plagas en nopal. VIII Simposium-Taller Nacional y 1er Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal". Campus de Ciencias Agropecuarias, UANL. Escobedo, Nuevo León, México. Pp. 95-110.
- Mendes, L.O.T. (1939).** Segunfda contribuição sobre a ocorrência da "traca da batathina" *Gnorimoschema operculella* (Zeller) (LEPIDOPTERA:Gelechiidae) no estado de São Paulo. Secretaria da Agricultura, Industria e Comercio do Estado de São Paulo, Instituto Agronomico do Estado, Campinas, Boletim Técnico, 39: 1-36.
- Messelink, G.J., Bennison, J., Alomar, O., Ingegno, B.L., Tavella, L., Shipp, L., Palevsky, E. & Wackers, F.L. (2014).** Approaches to conserving natural enemy populations in greenhouse crops: current methods and future prospects. *BioControl*, 59:377-393.
- Mills, N.J. (1994).** Parasitoid guilds: defining the structure of the parasitoid communities of endopterygote insect hosts. *Environmental Entomology*, 23: 1066-1083.
- Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali. (2009).** Rinvenimento in Italia dell 'Organismo Nocivo *Tuta absoluta*. Documento Tecnico per la Conoscenza e il Contenimento del Fitofago. http://www.ssabasilicata.it/CANALI_TEMATICI/Difesa_Fitosanitaria/File_allegatiDocumento_tecnico_su_Tuta_absoluta_approvato_dal_CFN_del_23.06.2009.pdf. Acceso: 05/04/2015.
- Mohamed, E.S.I., Mohamed, M.E. & Gamiel, S.A. (2012).** First record of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Sudan. *OEPP/EPPO Bulletin*, 42: 325-327.
- Molla, O., Alonso, M., Monton, H., Beitia, F., Verdu, M.J., Gonzalez-Cabrera, J. & Urbaneja, A. (2010).** Control Biologico de *Tuta absoluta*. Catalogación de

enemigos naturales y potencial de los miridos depredadores como agentes de control. *Phytoma*, 217: 42–46.

Mollá, O., González-Cabrera, J. & Urbaneja, A. (2011). The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. *BioControl*, 56: 883–891.

Montoya, P., Liedo P., Benrey, B., Cancino, J., Barrera, J. F., Sivinski, J. & Aluja, M. (2000). Biological Control of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) in Mango Orchards through Augmentative releases of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 18: 216–224.

Moratorio, M.S. (1990). Host-finding and oviposition behavior of *Anagrus mutans* and *Anagrus silwoodensis* (Hymenoptera: Mymaridae). *Environmental Entomology*, 19: 142–147.

Morin, E. (2005). Restricted complexity, general complexity. Paper presented at the *Colloquium Intelligence de la complexite: epistemologie et pragmatique*, Cerisy-La-Salle, France.

Nannini, M., Atzori, F., Coinu, M., Pesci, R. & Sanna, F. (2012). A three-year survey of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) population trends in Sardinian tomato greenhouses. *Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate IOBC-WPRS. Bulletin*, 80: 39–44.

Nasreen, A., Gillespie, D.R. & Mustafa, G. (2011). Graphical marginal analysis of the economics of natural enemy production: An example using a pilot mass rearing system for green lacewing. *Biological Control*, 57: 44–49.

Nicholls, C.I., Parrella, M. & Altieri, M.A. (2000). Reducing the abundance of leafhoppers and thrips in a northern California organic vineyard through maintenance of full

season floral diversity with summer cover crops. *Agricultural and Forest Entomology*, 2: 107-113.

Nicholls Estrada, C.I. (2008). *Control Biológico de Insectos: Un enfoque agroecológico*. Ciencia y Tecnología. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia. 282pp.

Nieves, E.L. (2013). Evaluación del parasitoide, *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) como agente de control biológico de la “polilla del tomate”, *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae). Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, La Plata.

Nieves, E., Pereyra, P.C., Luna, M.G., Medone, P. & Sanchez, N.E. (2015). Laboratory population parameters and field impact of the larval endoparasitoid *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae) on its host *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato crops in Argentina. *Journal of Economic Entomology*, 108: 1553-1559.

Oatman, E.R. & Platner, G.R. (1989). Parasites of the potato tuberworm, tomato pinworm, and other closely related gelechiids. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 29: 23-30.

Odum, E.P. (1969). The strategy of ecosystem development. *Science*, 164:262-270.

Ortega, Y.R. (2013). La palomilla del tomate (*Tuta absoluta*): una plaga que se debe conocer en Cuba. *Fitosanidad*, 17: 171-181.

Pacala, S. W. & Hassell, M.P. (1991). The persistence of host-parasitoid associations in patchy environments. II. Evaluation of field data. *American Naturalist*, 138: 584-605.

- Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H, López, S.L. & Carrasco, A.R. (2010). Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrate by impairing retinoic acid signaling. *Chemical Research in Toxicology*, 23: 1586-1595.
- Pandey, K.P., Kumar, A. & Tripathi, C.P.M. (1986). Numerical response of *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphidiidae), a parasitoid of *Lipaphis erysimi* Kalt. (Hemiptera:Aphididae). *Journal of Advanced Zoology*, 7: 5-9.
- Parodi, L. (1964). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Ed ACME. Vol. 1 (Tomo I y II) y Vol. 2. Buenos Aires. Argentina. 1160 pp.
- Parra, J.R.P. & Zucchi, R.A. (2004). *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of Use after Twenty Years of Research. *Neotropical Entomology*, 33: 271-281.
- Pastrana, J.A. (2004). Los Lepidópteros Argentinos: sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios. Sociedad Entomológica Argentina. 350pp.
- Pereira, R.R., Picanco, M.C., Jr Santana, P.A., Moreira, S.S., Guedes, R.N.C. & Correa, A.S. (2014). Insecticide toxicity and walking response of three pirate bug predators of the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Agricultural and Forest Entomology*, 16: 293-301.
- Pereyra, P.C. & Sanchez, N.E. (2006). Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*, 35: 671-676.
- Pérez, J., Hurtado, G., Aparicio, V., Argueta, Q. & Larín, M. (2002). Guía Técnica: *cultivo de Tomate*. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador. 48 pp.

- Pérez Consuegra, N. (2003).** *Agricultura Orgánica: bases para el manejo ecológico de plagas*. CEDAR. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. Universidad Agraria de La Habana, Cuba. ISBN: 959-246- 071-X. Primera edición. 80 pp.
- Pérez Consuegra, N. (2004).** *Manejo Ecológico de Plagas*. CEDAR. Centro de Estudios de Desarrollo Agrario y Rural. Universidad Agraria de La Habana, Cuba. ISBN: 959-246- 083-3. 292 pp.
- Petit, J.N., Hoddle, M.S., Grandgirard, J., Roderick, G.K. & Davies N. (2008).** Short-distance dispersal behavior and establishment of the parasitoid *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae) in Tahiti: Implications for its use as a biological control agent against *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae). *Biological Control*, 45: 344–352.
- Pilkington, L.J., Messelink,G., van Lenteren, J.C. & Le Mottee, K. (2010).** “Protected Biological Control” – Biological pest management in the greenhouse industry. *Biological Control*, 52: 216–220.
- Pimentel, D. & Lehman, H. (1993).** *The Pesticide Question: Environment, Economics and Ethics*. Chapman and Hall, New York. 441 pp.
- Pimm, S.L., Lawton, J.H. & Cohen, J.E. (1991).** Food web patterns and their consequences. *Nature*, 350: 669-674.
- Pineda, C.F. & Mierez, L.V. (2015).** Producción de tomate en el Gran La Plata: Tecnologías utilizadas, manejos alternativos y evaluación de la situación. *Boletín Hortícola* n°53. ISSN 0328-719X.
- Polack A., Saini E. y García Sampedro C. (2002).** Guía de monitoreo y reconocimiento de plagas y enemigos naturales de tomate y pimiento. *Boletín de Divulgacion Tecnica* n° 13. INTA.

- Polack, L.A. (2008). Interacciones tritróficas involucradas en el control de plagas de cultivos hortícolas. Disertación de Tesis Doctoral FCNyM, UNLP.
- Polack, A. (2011). Modelo fenológico. Perspectivas de uso para el monitoreo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae). Taller: La polilla del tomate en la Argentina: estado actual del conocimiento y prospectiva para un manejo integrado de plagas. Noviembre de 2012. INTA-UNLP.
- Polis, G.A. & Winemiller, K.O. (1996). *Food Webs. Integration of patterns and dynamics*. Chapman & Hall, London. 460pp.
- Powell, W. (1986). Enhancing parasite activity in crops. Pp. 319-340. In: J. Waage & D. Greathead (Eds.): *Insect Parasitoids*. Academic Press, London, U.K.
- Power, A. G. (2010). Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 365: 2959-2971. doi:10.1098/rstb.2010.0143.
- Price, P.W., Denno, R.F., Eubanks, M.D., Finke, D.L. & Kaplan, I. (2011). *Insect Ecology*. New York, Cambridge University Press. 801 pp.
- Quicke, D.L.J. (1997). *Parasitic Wasps*. Chapman & Hall, London. 470pp.
- R Development Core Team. (2014). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Relyea, R.A. (2005). The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. *Archives in Environmental Contamination and Toxicology*, 48: 351-357.

- Restrepo, J. (1996). *Abonos orgánicos fermentados*. Primera edición. OIT CEDECO, Costa Rica. 51pp.
- Rim, H., Uefune, M., Osawa, R. & Takabayashi, J. (2015). Olfactory response of the omnivorous mirid bug *Nesidiocoris tenuis* to eggplants infested by prey: Specificity in prey developmental stages and prey species. *Biological Control*, 91: 47–54.
- Rodriguez Rodriguez, R., Tabares Rodriguez, J.M. Medina San Juan, J.A. (1989). *Cultivo Moderno del Tomate*. Ediciones Paraninfo S.A, Madrid, España. 255pp.
- Romero Sueldo, M.R., Bruzzone, O.A. & Virla, E.G. (2010). Characterization of the earwig, *Doru lineare*, as a predator of larvae of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. A functional response study. *Journal of Insect Science*, 10: 38. doi: 10.1673/031.010.3801. Available online: <http://www.insectscience.org/10.38/>
- Root, R.B. (1973). Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs*, 43:95–124.
- Rott, A.S. & Godfray, H.C.J. (2000). The structure of a leafminer-parasitoid community. *Journal of Animal Ecology*, 69: 274–289.
- Rouaux, J. (2015). Coleopterofauna epígea de importancia agrícola en cultivos de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) con diferente manejo sanitario, en el Cinturón Flori-Hortícola Platense. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP, La Plata.
- Russell IPM Ltd. 2009f. Qlure-TUA-Technical Data Sheet. Russell IPM Ltd. http://www.russellipm-agriculture.com/insect.php?insect_id=125&lang=en
- Sabelis, M.W., Janssen, A., Lesna, I., Aratchige, N.S., Nomikou, M. & Rijn, P.C.J. (2008). Developments in the use of predatory mites for biological pest control.

Integrated control in protected crops, temperate climate. IOBC/WPRS Bulletin, 32: 187-199.

Salas, J. (2007). Presencia de *Phthorimaea operculella* y *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), capturados en trampas con feromonas, en cultivos de tomate en quíbor, venezuela / Presence of *Phthorimaea operculella* and *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), captured in pheromone traps, In tomato plantings at Quíbor, Venezuela. *Bioagro*, 19:143-147.

Salas, J. & Quiroga, B. (1985). Biología de *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) el minador grande de la hoja del tomate. *Agronomía Tropical*, 35: 41-49.

Salas Gervassio, N.G., Pérez- Hedo, M., Luna, M.G. & Urbaneja, A. (2016) a. Intraguild predation and competitive displacement between *Nesidiocoris tenuis* and *Dicyphus maroccanus*, 2 biological control agents in tomato pests. *Insect Science*, 00: 1-9.

Salas Gervassio, N.G., Luna, M.G., Lee, S., Salvo, A. & Sánchez, N.E. (2016) b. Trophic web associated with the South American tomato moth *Tuta absoluta*: implications for its conservation biological control in Argentina. *Agricultural and Forest Entomology*, 18: 137-144.

Salvo, A. (2008). Parasitoides de minadores de hojas. Pp: 31-51. En: L.E. Claps, G. Debandi & S. Roig-Juñent (Eds.). *Biodiversidad de artópodos argentinos*. Vol. 2. Argentina.

Sánchez, N.E., Pereyra, P.C. & Luna, M.G. (2009). Spatial patterns of parasitism of the solitary parasitoid *Pseudapanteles dignus* (Muesebeck) (Hymenoptera:

Braconidae) on the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Environmental Entomology, 38: 365-374.

Sánchez, N.E. (2012). Modelo actual de desarrollo agrícola de la Argentina. En: Modelo agrícola e impacto socio-ambiental en la Argentina: monocultivo y agronegocios. Serie de libros electrónicos Sociedad y Ambiente: reflexiones para una nueva América Latina. Comité de Medio Ambiente de la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo. 16-65 pp.

Santadino, M., Coviella, C. & Momo, F. (2014). Glyphosate sublethal effects on the population dynamics of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). Water, Air and Soil Pollution, 225: 2207.

Santamaría, M.Y., Ebratt, E. & Benavides, M.A. (2007). Estudios biológicos de *Copidosoma* sp (Hymenoptera: Encyrtidae) parasitoide de *Neoleucinodes elegantalis* (Lepidoptera: Crambidae) en tomate de árbol, en Cundinamarca. Revista Inventum No. 3 Facultad de Ingeniería Uniminuto. ISSN 1909-2520.

Sarandón, S.J. (2002). El camino hacia una agricultura sustentable". Ediciones Científicas Americanas, La Plata. Buenos Aires. Argentina. 557pp.

Sarandón, S.J., Flores, C.C., Abbona, E., Iermanó, M.J., Blandi, M.L., Oyhhamburu, M. & Presutti, M., (2015). Análisis del uso de agroquímicos asociado a las actividades agropecuarias de la Provincia de Buenos Aires. En: Relevamiento de la utilización de Agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires - Mapa de Situación e incidencias sobre la salud. Defensoría del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires: 18-495.

Savino, V., Luna, M.G., Salas Gervassio, N.G. & Coviella, C. (2016). Interspecific interactions between two *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) larval parasitoids with contrasting life histories. Bulletin of Entomological Research doi:10.1017/S0007485316000547.

- Schneider, M.I., Sánchez, N.E., Pineda, S., Chi, H. & Ronco, A. (2009). Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Ecological approach. *Chemosphere*, 76: 1451-1455.
- SENASA. (2016). ACBM. Productos Registrados y Usos. Dirección Nacional de Agroquímicos, Productos Veterinarios y Alimentos. DIRECCIÓN DE AGROQUÍMICOS Y BIOLÓGICOS. 13 págs.
- Sevilla Guzmán, E. & Soler Montiel, M. (2009). Del desarrollo rural a la agroecología. Hacia un cambio de paradigma. *Revista de Estudios Sociales y Sociología Aplicada*, 155: 23-39.
- Shah, M.A. & Khan, A.A. (2013). Functional response- a function of predator and prey species. *The Bioscan*, 8: 751-758.
- Shipp, J.L. & Whitfield, G.H. (1991). Functional response of the predatory mite, *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae), on western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanopter: Thripidae). *Environmental Entomology*, 20: 694-699.
- Shukla, A.N., Tripathi, C.P.M. & Singh, R. (1997). Effect of food plants on numerical response of *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Homoptera: Aphididae). *Biological Agriculture and Horticulture*, 14: 71-77.
- Silveira, L.C.P., Bueno, V.H.P., van Lenteren, J.C. (2004). *Orius insidiosus* as biological control agent of Thrips in greenhouse chrysanthemums in the tropics. *Bulletin of Insectology*. 57: 103-109.

- Siqueira, H. A., Guedes, R.N. & Picanco, M.C. (2000). Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 2: 147-153.
- Sivinski, J.M. (1996). The past and potential of biological control of fruit flies. Pp. 369–375. In: B.A. McPherson & G.F. Steck (Eds.). *Fruit Fly Pests. A World Assessment of Their Biology and Management*. St. Lucie Press. Delray Beach, FL.
- Skovgard, H. (2002). Dispersal of the Filth Fly Parasitoid *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a Swine Facility Using Fluorescent Dust Marking and Sentinel Pupal Bags. *Environmental Entomology*, 31: 425-431.
- Smith, I.M., Hoffmann, A.A. Thomson, L.J. (2015). Ground cover and floral resources in shelterbelts increase the abundance of beneficial hymenopteran families. *Agricultural and Forest Entomology*, 17: 120–128.
- Solomon, M.E. (1949). The natural control animal populations. *Journal of Animal Ecology*, 18, 1–35.
- Speranza, S., Virla, E., Huemer, P. (2009). Attacchi de *Tuta absoluta*. riconoscerla per gestirla. *Terra e Vita*, 25: 44-47.
- Speranza, S., Melo, M.C., Luna, M.G. & Virla, E.G. (2014). First record of *Zelus obscuridorsis* (Hemiptera:Reduviidae) as a predator of the South American tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae). *Florida Entomologist*, 97: 295-297.
- Speyer, E.R. (1927). An important parasite of the greenhouse white-fly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Bulletin of Entomological Research*, 17: 301–308.

Srinivasan, R. (2008). Integrated Pest Management for eggplant fruit and shoot borer (*Leucinodes orbonalis*) in south and southeast Asia: Past, Present and Future. Journal of Biopesticides, 1:105 – 112.

Srinivasan, R. (2009). *Insect and Mite Pest on Eggplant: a field guide for identification and management*. AVRDC – The World Vegetable Center, Shanhua, Taiwan. AVRDC Publication No. 09-729. 64 pp.

StatSoft (2007) Statistica (data analysis software system), version 8.0. Tulsa, OK, StatSoft.

Stern, V.M., Smith, R.F., Van Den Bosch, R. & Hagen, K.S. (1959). The integrated control concept. Hilgardia, 29: 81-101.

Stiling, P. & Cornelissen, T. (2005). What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. Biological Control, 34:236–246.

Strassera, M.E. (2009). Análisis de la sustentabilidad de diferentes sistemas de producción comercial de tomate bajo cubierta para el manejo de las plagas *Trialeurodes vaporariorum* y *Tuta absoluta* en el Cinturón Hortícola Platense. Trabajo de tesis presentado. Carrera de Magister Scientiae en Protección Vegetal con orientación en Manejo de Plagas Animales. Fac. Cs. Agrarias y Forestales, UNLP.

Stupino, S.A., Frangi, J.I. & Sarandón, S.J. (2012). Caracterización de fincas hortícolas según el manejo de cultivos, La Plata, Argentina. En: VII Congreso de Medio Ambiente AUGM. UNLP. La Plata, Argentina, 25pp.

Sujayanand, G.K., Sharma, R.K., Shankarganesh, K., Saha, S. & Tomar, R.S. (2015). Crop diversification for sustainable insect pest management in eggplant (Solanales: Solanaceae). Florida Entomologist, 98:305-314.

- Thacker, J.R.M. (2002). *An Introduction to Arthropod Pest Control*. Cambridge University Press. New York. 343 pp.
- Thies, C. & Tscharntke, T. (1999). Landscape structure and biological control of agroecosystems. *Science*, 285: 893-895.
- Thomson, L.J. & Hoffmann, A.A. (2006). Field validation of laboratory-derived IOBC toxicity ratings for natural enemies in commercial vineyards. *Biological Control*, 39: 507-515.
- Teubal, M., Domínguez, D. & Sabatino, P. (2005). Transformaciones agrarias en la Argentina. Agricultura industrial y sistema agroalimentario. En: Giarraca, N y M. Teubal (coord.). *El campo argentino en la encrucijada*. Ed. Alianza, Buenos Aires. 514 pp.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Rosamond, N. & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418:671-677.
- Torres, J.B., Evangelista, W.S., Barras, R. & Guedes, R.N. (2002). Dispersion of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs preying on tomato leafminer: effect of predator release time, density and satiation level. *Journal of Applied Entomology*, 126: 326-332.
- Toonang, H.E.Z., Mohamed, S.F., Khamis, F. & Ekesi. S. (2015). Identification and Risk Assessment for Worldwide Invasion and Spread of *Tuta absoluta* with a Focus on Sub-Saharan Africa: Implications for Phytosanitary Measures and Management. *PLOS ONE*, DOI:10.1371/journal.pone.0135283.
- Tropea Garzia G., Colombo A., Siscaro G. & Campo G. (2009). Rinvenuta in Sicilia *Tuta absoluta*. *L'Informatore Agrario*, Verona, LXV (4): pp 71.

- Tscharntke, T., Klein, A.M., Kruess, A., Ingolf Steffan-Dewenter, I. & Thies, C. (2005). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters*, 8: 857–874.
- Uchoa-Fernandes, M.A. & Campos, W.G. (1993). Parasitoides de larvas e pupas da traca-do-tomateiro, *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 37: 399-402.
- Urbaneja, A., Vercher, R., Navarro, V., García Marí, F. & Porcuna, J.L. (2007). La polilla del tomate *Tuta absoluta*. *Phytoma*, 194: 16-23.
- Urbaneja, A., Gonzalez, J., Arno, J. & Gabarra, R. (2012). Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Management Science*, 68: 1215-1222.
- Urretabizkaya, N., Vasicek, A. & Saini, E. (2010). *Insectos Perjudiciales de Importancia Agroinómica*. I. Lepidópteros. Ediciones INTA. 77pp.
- USDA (2011). New Pest Response Guidelines Tomato Leafminer (*Tuta absoluta*). USDA.
- Valladares, G. & Salvo, A. (1999). Insect-plant food webs could provide new clues for pest management. *Environmental Entomology*, 28: 539-544.
- Vallina, C., Savino, V., Greco, N.M., Luna, M.G. (2012). Cría de agentes de control biológico: almacenamiento en frío de las pupas de *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera: Braconidae). Libro de actas del VIII Congreso Argentino de Entomología. Bariloche, Argentina.
- van Alphen, J.J.M. & Jervis M.A. (1996). Foraging Behaviour. Pp: 1-62. In: M. Jervis & N. Kidd (Eds.). *Insect Natural Enemies: Practical approaches to their study and evolution*. School of Pure and Applied Biology. University of Wale, Cardiff, UK.

- van den Bosch, R. & Stern, V.M. (1962). The integration of chemical and biological control of arthropod pests. *Annual Review of Entomology*, 7:367-386.
- van den Bosch, R., Messenger, P.S. & Gutierrez A.P. (1982). *An introduction to biological control*. Plenum Press, New York and London. 247 pp.
- Van der Blom, J., Robledo, A., Torres, S., Sánchez, J.A. & Contreras, M. (2008). Control biológico de plagas en Almería: Revolución verde después de dos décadas. *Phytoma*, 198: 42-48.
- van Driesche R.G., Hoodle M.S. & Center T.D. (2007). *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*. USDA Forest Service Forest Health Technology Enterprise Team, Washington, D.C. 765 pp.
- van Lenteren, J.C. (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy?. *Crop Protection*, 19: 375-384.
- van Lenteren, J.C. (2003). Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol*, 48:123-139.
- Van Lenteren, J.C. (2005). Early entomology and the discovery of insect parasitoids. *Biological Control*, 32: 2-7.
- van Lenteren, J.C. & Bueno, V.H.P. (2003). Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol*, 48: 123-139.
- van Lenteren, J.C. & Manzaroli, G. (1999). Evaluation and use of predators and parasitoids for biological control of pests in greenhouses. In: R. Albajes, M.L. Gullino, J.C. van Lenteren & Y. Elad (Eds.). *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouses Crops*. Pp 183-201. Kluwer. Dondrecht. The Netherlands.

- van Lenteren, J.C. (2012)a. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, 57:1-20.
- van Lenteren, J.C. (2012)b. Internet Book of Biological Control. Available from: www.IOBC-Global.org, Wageningen, The Netherlands. Acceso: 12-09-2016.
- Vargas,H.C. (1970). Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Idesia*, 1: 75 -110.
- Vavilov, N.I. (1951). The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants, *Chronica Botanica*, 13: 1-366.
- Vázquez Moreno, L.L. (2010). *Manejo de Plagas en la Agricultura Ecológica*. Boletín Fitosanitario. INISAV. Cuba. 120pp.
- Vera, M.S., Lagomarsino, L., Sylvester, M., Pérez, G.L., Rodríguez, P., Mugni, H., Sinistro, R., Ferraro, M., Bonetto, C., Zagarese, H. & Pizarro, H. (2010). New evidences of Roundup_ (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology*, 19:710-721.
- Viggiani, G., Filella, F., Delrio, G., Ramassini, W. & Foxi, C. (2009). *Tuta absoluta*, nuovo lepidottero segnalato anche in Italia. *L'Informatore Agrario*, 2: 66-69.
- Viglizzo, E.F. & Jobbágy E. (2011). Expansión de la Frontera Agropecuaria en Argentina y su Impacto Ecológico-Ambiental. Ediciones INTA. 102pp.
- Villulla, J.M (2006). Cambios sociales y degradación de la producción en el cinturón hortícola platense [en línea]. Trabajo final de grado. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación. Disponible en: <http://www.memoria.fahce.unlp.edu.ar/tesis/te.484/te.484.pdf>

Vivan, L.M., Torres, J.B., Barros, R., Veiga, A.F.S.L. & Zanuncio, J.C. (2002). "Comportamiento de predación e conversão alimentar de *Podisus nigrispinus* sobre a traça-do-tomateiro". Pesquisa Agropecuária Brasileira, 37: 581-587.

Wajnberg, G., Scott J.K. & Quimby, P.C. (2001). *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. CABI Publishing, Cambridge. 597pp.

Wajnberg, E., Bernstein, C. & van Alphen J. (2008). Behavioral ecology of insect parasitoids. Blackwell Publishing. 464 pp.

Walde, S. J. & Murdoch, W.W. (1988). Spatial density dependence in parasitoids. Annual Review of Entomology, 33: 441-466.

Wanumen Riaño, A.C. (2012). Evaluación de diferentes densidades de liberación de *Apanteles gelechiidivoris* Marsh (Hymenoptera: Braconidae) para el control de *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) en condiciones comerciales. Trabajo de Máster en Biología Aplicada. Universidad Militar Nueva Granada. Facultad de Ciencias Básicas. Bogotá, Colombia, D.C.

Wapshere, A.J. (1974). A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. Annals of Applied Biology, 77: 201-211.

Wharton, R.A., Marsh, P.M. & Sharkey, M.J. (1997). *Manual of the New World genera of Braconidae (Hymenoptera)*. Special Publication of The International Society of Hymenopterists. Number 1. Washington, DC. 432pp.

Whitfield, J.B., Rodriguez, J.J. & Masonick, P.K. (2009). Reared microgastrine wasps (Hymenoptera: Braconidae) from Yanayacu Biological Station and environs (Napo Province, Ecuador): Diversity and host specialization. Journal of Insect Science, 9(31): 22pp. available online: insectscience.org/9.31

- Williams, H.J., Elzen, G.W. & Vinson, S.B. (1988). Parasitoid-Host-Plant Interactions, Emphasizing Cotton (Gossypium). Pp.171-200. In: (P. Barbosa & D.K. Letourneau (Eds.). *Novel Aspects Of Insect-Plant Interactions*. Wiley-Interscience Publication, New York.
- Wong, T.T.Y., Ramadan, M.M., McInnis, D.O., Mochizuki, N., Nishimoto, J.J. & Herr, J.C. (1991). Augmentative releases of *Diachasmimorpha tryoni* (Hymenoptera: Braconidae) to suppress a Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) population in Kula, Maui, Hawaii. *Biological Control*, 1: 2-7.
- Xu, H.Y., Yang, N.H, Duan, M. & Wan F.H. (2014). Functional response, host stage preference and interference of two whitefly parasitoids. *Insect Science*, doi: 10.1111/1744-7917.12186.
- Yang, N.W., Ji, L.L., Lovei, G.L. & Wan, F.H. (2012). Shifting preference between oviposition vs. host-feeding under changing host densities in two Aphelinid parasitoids. *PLoS ONE*, 7: e41189. doi: 10.1371/journal.pone.0041189.
- Zappalà, L., Biondi, A., Alma, A., Al-Jboory, I.J., Arno, J., Bayram, A., Chailleux, A., El-Arnaouty, A., Gerling, D., Guenaoui, Y., Shaltiel-Harpaz, L., Siscaro, G., Stavrinides, M., Tavella, L., Vercher Aznar, R., Urbaneja, A. & Desneux, N. (2013). Natural enemies of the South American moth, *Tuta absoluta*, in Europe, North Africa and Middle East, and their potential use in pest control strategies. *Journal of Pest Science*, 86: 635-647.
- Zapater, M.C. (1996). *El control biológico en America Latina*. IOBC, Buenos Aires, Argentina.

Zuloaga, F.O. & Morrone, O. (1999). Catalogo de las plantas vasculares de la Republica Argentina. Monographs in Systematics Botany from the Missouri Botanical Garden, 74: 1-1269.